This is a digital copy of a book that was preserved for generations on library shelves before it was carefully scanned by Google as part of a project to make the world's books discoverable online.

It has survived long enough for the copyright to expire and the book to enter the public domain. A public domain book is one that was never subject to copyright or whose legal copyright term has expired. Whether a book is in the public domain may vary country to country. Public domain books are our gateways to the past, representing a wealth of history, culture and knowledge that's often difficult to discover.

Marks, notations and other marginalia present in the original volume will appear in this file - a reminder of this book's long journey from the publisher to a library and finally to you.

Usage guidelines

Google is proud to partner with libraries to digitize public domain materials and make them widely accessible. Public domain books belong to the public and we are merely their custodians. Nevertheless, this work is expensive, so in order to keep providing this resource, we have taken steps to prevent abuse by commercial parties, including placing technical restrictions on automated querying.

We also ask that you:

+ *Make non-commercial use of the files* We designed Google Book Search for use by individuals, and we request that you use these files for personal, non-commercial purposes.

+ *Refrain from automated querying* Do not send automated queries of any sort to Google's system: If you are conducting research on machine translation, optical character recognition or other areas where access to a large amount of text is helpful, please contact us. We encourage the use of public domain materials for these purposes and may be able to help.

+ *Maintain attribution* The Google "watermark" you see on each file is essential for informing people about this project and helping them find additional materials through Google Book Search. Please do not remove it.

+ *Keep it legal* Whatever your use, remember that you are responsible for ensuring that what you are doing is legal. Do not assume that just because we believe a book is in the public domain for users in the United States, that the work is also in the public domain for users in other countries. Whether a book is still in copyright varies from country to country, and we can't offer guidance on whether any specific use of any specific book is allowed. Please do not assume that a book's appearance in Google Book Search means it can be used in any manner anywhere in the world. Copyright infringement liability can be quite severe.

About Google Book Search

Google's mission is to organize the world's information and to make it universally accessible and useful. Google Book Search helps readers discover the world's books while helping authors and publishers reach new audiences. You can search through the full text of this book on the web at `http://books.google.com/`

A propos de ce livre

Ceci est une copie numérique d'un ouvrage conservé depuis des générations dans les rayonnages d'une bibliothèque avant d'être numérisé avec précaution par Google dans le cadre d'un projet visant à permettre aux internautes de découvrir l'ensemble du patrimoine littéraire mondial en ligne.

Ce livre étant relativement ancien, il n'est plus protégé par la loi sur les droits d'auteur et appartient à présent au domaine public. L'expression "appartenir au domaine public" signifie que le livre en question n'a jamais été soumis aux droits d'auteur ou que ses droits légaux sont arrivés à expiration. Les conditions requises pour qu'un livre tombe dans le domaine public peuvent varier d'un pays à l'autre. Les livres libres de droit sont autant de liens avec le passé. Ils sont les témoins de la richesse de notre histoire, de notre patrimoine culturel et de la connaissance humaine et sont trop souvent difficilement accessibles au public.

Les notes de bas de page et autres annotations en marge du texte présentes dans le volume original sont reprises dans ce fichier, comme un souvenir du long chemin parcouru par l'ouvrage depuis la maison d'édition en passant par la bibliothèque pour finalement se retrouver entre vos mains.

Consignes d'utilisation

Google est fier de travailler en partenariat avec des bibliothèques à la numérisation des ouvrages appartenant au domaine public et de les rendre ainsi accessibles à tous. Ces livres sont en effet la propriété de tous et de toutes et nous sommes tout simplement les gardiens de ce patrimoine. Il s'agit toutefois d'un projet coûteux. Par conséquent et en vue de poursuivre la diffusion de ces ressources inépuisables, nous avons pris les dispositions nécessaires afin de prévenir les éventuels abus auxquels pourraient se livrer des sites marchands tiers, notamment en instaurant des contraintes techniques relatives aux requêtes automatisées.

Nous vous demandons également de:

+ *Ne pas utiliser les fichiers à des fins commerciales* Nous avons conçu le programme Google Recherche de Livres à l'usage des particuliers. Nous vous demandons donc d'utiliser uniquement ces fichiers à des fins personnelles. Ils ne sauraient en effet être employés dans un quelconque but commercial.

+ *Ne pas procéder à des requêtes automatisées* N'envoyez aucune requête automatisée quelle qu'elle soit au système Google. Si vous effectuez des recherches concernant les logiciels de traduction, la reconnaissance optique de caractères ou tout autre domaine nécessitant de disposer d'importantes quantités de texte, n'hésitez pas à nous contacter. Nous encourageons pour la réalisation de ce type de travaux l'utilisation des ouvrages et documents appartenant au domaine public et serions heureux de vous être utile.

+ *Ne pas supprimer l'attribution* Le filigrane Google contenu dans chaque fichier est indispensable pour informer les internautes de notre projet et leur permettre d'accéder à davantage de documents par l'intermédiaire du Programme Google Recherche de Livres. Ne le supprimez en aucun cas.

+ *Rester dans la légalité* Quelle que soit l'utilisation que vous comptez faire des fichiers, n'oubliez pas qu'il est de votre responsabilité de veiller à respecter la loi. Si un ouvrage appartient au domaine public américain, n'en déduisez pas pour autant qu'il en va de même dans les autres pays. La durée légale des droits d'auteur d'un livre varie d'un pays à l'autre. Nous ne sommes donc pas en mesure de répertorier les ouvrages dont l'utilisation est autorisée et ceux dont elle ne l'est pas. Ne croyez pas que le simple fait d'afficher un livre sur Google Recherche de Livres signifie que celui-ci peut être utilisé de quelque façon que ce soit dans le monde entier. La condamnation à laquelle vous vous exposeriez en cas de violation des droits d'auteur peut être sévère.

À propos du service Google Recherche de Livres

En favorisant la recherche et l'accès à un nombre croissant de livres disponibles dans de nombreuses langues, dont le français, Google souhaite contribuer à promouvoir la diversité culturelle grâce à Google Recherche de Livres. En effet, le Programme Google Recherche de Livres permet aux internautes de découvrir le patrimoine littéraire mondial, tout en aidant les auteurs et les éditeurs à élargir leur public. Vous pouvez effectuer des recherches en ligne dans le texte intégral de cet ouvrage à l'adresse `http://books.google.com`

HC 2PZ7 C

M. FUNCK

MANUEL
DE
BACTÉRIOLOGIE CLINIQUE

2e ÉDITION

Bruxelles - H. Lamertin

BOSTON
MEDICAL LIBRARY
8 THE FENWAY

MANUEL

DE

BACTÉRIOLOGIE CLINIQUE

DU MÊME AUTEUR :

Manuel de Sérothérapie antidiphtérique, avec une préface de M. le professeur DESTRÉE. Un vol. 161 p. Lamertin, éditeur . . . . . fr. 3 00

La Sérothérapie de la fièvre typhoïde. Thèse présentée à la Faculté de médecine. Un vol. 94 p., 1896. 3 00

MANUEL

DE

BACTÉRIOLOGIE CLINIQUE

PAR

M. FUNCK

CHEF DU LABORATOIRE DE BACTÉRIOLOGIE DE L'UNIVERSITÉ
DE BRUXELLES,
DIRECTEUR DE L'INSTITUT PROVINCIAL
DE SÉROTHÉRAPIE

Avec sept planches coloriées hors texte.

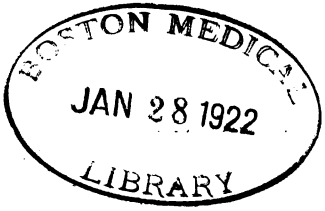
DEUXIÈME ÉDITION

BRUXELLES
HENRI LAMERTIN, ÉDITEUR
20, RUE DU MARCHÉ-AU-BOIS

1903

Tous droits réservés.

7. F169



PRÉFACE

DE LA PREMIÈRE ÉDITION

Ce manuel est un résumé du cours pratique de bactériologie que nous donnons depuis trois ans à l'Université de Bruxelles. Il s'adresse par conséquent aux étudiants qui désirent revoir rapidement ce qu'ils ont appris dans les manipulations du laboratoire et aux médecins qui peuvent y puiser les renseignements indispensables pour pratiquer une analyse bactériologique. On n'a pas toujours la possibilité de recourir aux lumières d'un spécialiste, comme il est si facile de le faire dans les grands centres scientifiques. Or, un médecin doit pouvoir faire des examens microscopiques de crachats,

de pus, d'exsudats quelconques; nous avons voulu démontrer que ces recherches ne sont pas difficiles et qu'elles ne nécessitent pas d'installations coûteuses; il faut savoir qu'elles ne demandent pas beaucoup de temps et se rappeler même qu'elles sont souvent largement rémunérées.

Nous avons cherché à être clair et concis : laissant de côté tout ce qui ne se rapporte pas à la pratique courante, nous avons tenu à ne mentionner dans ce manuel que les microbes pathogènes qu'un médecin peut être amené à rencontrer tous les jours dans sa clientèle.

Nous avons envisagé d'abord la technique microscopique, c'est-à-dire la façon de faire une préparation pour l'examen direct; ensuite nous avons étudié la technique bactériologique proprement dite et les méthodes employées pour obtenir une culture pure.

Ces deux chapitres doivent servir d'introduction à l'étude des microbes et nous amènent à l'examen systématique des bactéries pathogènes pour l'homme, dont nous ne passons en revue que les espèces principales, en signalant

leurs caractères microscopiques, biologiques et pathogènes les plus importants.

Enfin, nous avons terminé cet exposé par un résumé succinct de l'état actuel de la question de l'immunité, en réservant un chapitre spécial aux résultats pratiques des vaccinations et de la sérothérapie qui intéressent le praticien au double point de vue de la prophylaxie et du traitement des maladies infectieuses.

Pour faciliter ce travail, nous avons cru utile d'ajouter quelques planches dessinées d'après nature et qui permettront au débutant de s'y retrouver plus facilement dans la différenciation des microbes pathogènes les plus répandus.

Bruxelles, juin 1900.

PRÉFACE

DE LA SECONDE ÉDITION

L'accueil bienveillant qui a été réservé à la première édition de ce petit manuel nous a montré que le but que nous nous proposions était atteint et nous a engagé à en publier une seconde édition tout à fait remaniée.

Nous tenons à rappeler que notre objectif est modeste : nous avons voulu résumer les notions les plus importantes de la bactériologie, à l'usage des médecins et des étudiants qui n'ont pas les loisirs de compulser des traités volumineux et qui tiennent cependant à posséder des éléments clairs et exacts de microbiologie.

Nous savons tous que le médecin d'aujour-

d'hui, pour faire de la bonne besogne, doit être doublé d'un bactériologiste : il doit fréquemment recourir au microscope et aux cultures pour établir son diagnostic, — le fait est établi et reconnu, il est superflu d'y insister, — mais il aura surtout besoin de la bactériologie pour « penser » médicalement, pour avoir l'intelligence de ce duel constant entre l'élément infectant et l'organisme infecté, qui constitue la maladie infectieuse.

C'est dans le chapitre consacré à l'immunité — dont l'étude s'est beaucoup perfectionnée dans ces derniers temps — que le médecin et l'étudiant puiseront les éléments de compréhension des phénomènes de la pathologie générale infectieuse, ce qui, au lit du malade, leur permettra d'instituer un traitement rationnel en excitant les moyens physiologiques de défense, de faire en un mot de la thérapeutique biologique.

La génération actuelle de jeunes médecins se souviendra pendant longtemps de l'art consommé avec lequel notre ami et maître tant regretté, M. le professeur Destrée, avait mis

ces idées en pratique. Il y a un an à peine, il nous prodiguait encore ses conseils précieux pour la rédaction de ce petit livre.

Qu'il nous soit permis de saluer ici sa mémoire.

Les étudiants d'aujourd'hui savent quel maître érudit et dévoué ils ont perdu; qu'ils transmettent aux étudiants de demain la tradition des qualités du cœur et de l'esprit que cet homme d'élite avait répandues autour de lui!

M. FUNCK

Institut d'Hygiène et de Bactériologie
(Parc Léopold).

Janvier 1903.

BOSTON MEDICAL
JAN 28 1922
LIBRARY

CHAPITRE PREMIER

La Technique microscopique.

I. — *Le Microscope en bactériologie.*

Le microscope.

Appliqué à l'étude des microbes, le microscope sert principalement à deux usages : l'observation des colonies sur les plaques et l'examen des préparations fixées et colorées.

Pourvu d'un faible grossissement (en-dessous de 50 diamètres), il nous permettra surtout d'étudier le développement des colonies sur plaques d'agar. Muni d'une lentille à immersion (donnant plus de 600 diamètres), il se prêtera à l'examen des bactéries colorées dans les préparations.

En passant en revue les différentes parties d'un microscope combiné spécialement en vue

de ces recherches, nous avons à considérer :

1° L'*oculaire* : Celui-ci doit être faible (n° 2 ou 3 de Huyghens), afin de laisser aux images toute leur netteté et de ne pas obscurcir l'ensemble de la préparation. On se servira très exceptionnellement de numéros plus forts ;

2° L'*appareil d'éclairage* : Le système condensateur d'Abbe est absolument nécessaire. Il sera pourvu de préférence d'un diaphragme à iris, instantanément transformable ;

3° L'*objectif* : On le choisira à immersion homogène dans l'huile de cèdre. L'indice de réfraction de ce milieu étant de 1.515, se rapproche de celui du verre : certains rayons lumineux, concentrés par l'appareil d'Abbe, sont divergents à leur sortie de la préparation dans les montures à sec ; ils peuvent être utilisés par l'observateur grâce à l'immersion et rentrent dans l'axe optique. Ils contribuent donc à rendre la préparation plus claire.

Après chaque observation, il faut avoir soin de passer une peau de chamois sur l'objectif afin d'enlever toute trace d'huile, celle-ci se desséchant rapidement (en cas d'accident, laver à la benzine et éviter le xylol !). La lentille frontale des objectifs à immersion doit être amenée très près du deckglass pendant l'observation (leur angle d'ouverture étant de 170 degrés et

plus); il importe de manier ces instruments avec prudence et d'abaisser le tube avec précaution;

4° La *monture* (statif) peut être fixe ou à charnière et réversible. Il importe que la platine soit suffisamment grande pour pouvoir porter une plaque de Petri;

5° La *longueur* du tube n'est pas sans importance, car les objectifs à immersion sont corrigés pour un tube de $0^{m},176$. Un tube plus ou moins long donnerait des images beaucoup moins nettes;

6° Pour les observations à faire à la lumière, le bec Auer est une bonne source, à condition de faire passer les rayons à travers un globe (ballon) renfermant une solution étendue de sulfate de cuivre ammoniacal;

7° Les combinaisons suivantes sont les plus recommandables pour les recherches courantes:

I. *Zeiss, à Iéna*: Statif IV^{a}, ocul. 2; objectifs A et 1 1/2, revolver (prix : 600 francs).

II. *Leitz, à Wetzlar*: Statif II^{a}, ocul. 2; objectifs 2 et 1/12, revolver (prix : 320 francs).

III. *Nachet, à Paris*: Statif modèle d'étudiant, ocul. 2 et ocul. grand champ; objectifs 2 et 1/12, revolver (prix : 290 francs).

II. — *La Préparation.*

La préparation.

A. La substance à examiner est portée en quantité minime sur un deckglass au moyen d'un fil de platine recourbé en anse fermée (öse des Allemands). On étale soigneusement le liquide suspect (pus, crachats, etc.) dilué au besoin dans une très petite goutelette d'eau stérile, sur le couvre-objet. On laisse *sécher* à l'air libre ou, pour aller plus vite, on passe rapidement au-dessus d'un bec de Bunsen, à $0^{m},25$ au moins au-dessus de la flamme et en tenant la lamelle en main (ce qui évite la carbonisation).

B. Après la dessiccation, on procède à la fixation, qui est l'opération importante : on passe le deckglass, maintenu dans une pince spéciale (pince bactériologique de Cornet), dans la flamme d'un bec de Bunsen. Il est préférable de tenir le deckglass verticalement et de le passer très rapidement dans la flamme de haut en bas : on a moins de chance de brûler la préparation qu'en tenant le deckglass horizontalement, comme on le recommande généralement.

C. Après avoir fixé la préparation on procède à la coloration : dans ce but, on verse quelques gouttes du colorant sur le deckglass, que l'on passe recouvert, *sur toute sa surface*, de ma-

nière colorante, dans la flamme d'un bec de Bunsen ou d'une lampe à alcool jusqu'à production de vapeurs (éviter l'ébullition).

On se sert d'un colorant qui peut servir indifféremment pour toutes les bactéries ; c'est le *bleu de Löffler* dilué, dont la formule est :

Sol. alcool. sat. de bleu de méthylène, 30 gr.
Eau, 100 gr.
Potasse caustique 1 %, 1 gr.

Ce colorant universel peut servir dans la plupart des cas. Il y a cependant des circonstances où il est préférable de profiter des avantages d'une méthode spéciale de coloration, dite *méthode de Gram*, qui permet de différencier certaines bactéries les unes des autres.

Méthode de Gram.

La méthode de Gram, basée sur la propriété que possède l'iode de fixer le violet de gentiane sur certains microbes seulement et non pas sur d'autres, se réduit à quatre opérations :

1° Coloration à chaud (2 minutes) sur le deckglass au moyen du violet de gentiane aniliné :

Violet de gentiane (sol. alcool. sat.), 10 gr.
Eau d'aniline, 90 gr.

(L'eau d'aniline se prépare en mélangeant à 100 gr. d'eau distillée 3 gr. d'huile d'aniline : on agite fortement et on filtre sur un papier humide.)

Cette solution est instable;

On peut préparer une solution qui se conserve plus longtemps de la façon suivante :

Sol. alcool. sat. de violet, 10 gr.
Sol. phéniquée 2 1/2 p. c., 90 gr.

2° Fixation du colorant par l'iode ioduré (1 minute); on rejette l'excès de réactif colorant et on ajoute le liquide suivant *sans laver* préalablement à l'eau.

Solution iodo-iodurée : Iode, 1 gr.; Iod. de potassium, 2 gr.; Eau dist., 300 gr.

On laisse agir jusqu'à coloration brun foncée;

3° On décolore par l'alcool absolu (quelques minutes) qu'on laisse agir jusqu'à ce que la préparation prenne une teinte grise uniforme;

4° On colore le fond par l'éosine ou par une solution très diluée de fuchsine.

En opérant de cette façon, les bactéries qui prennent le Gram restent colorées en violet foncé, tandis que les autres microbes apparaissent en rose.

Retenons, au point de vue pratique, que tous les microcoques prennent le Gram excepté le gonocoque et qu'aucun bacille ne reste coloré par cette méthode excepté la diphtérie, le charbon et le tétanos.

III. — *L'Examen de la préparation.*

Une fois colorée, la préparation peut être examinée aussitôt ; il suffit d'enlever l'excès de matière colorante par un lavage rapide à l'eau, de retourner le deckglass chargé d'eau sur un porte-objet bien propre, d'essuyer l'excès d'eau avec du papier buvard, de déposer à la surface du deckglass une goutte d'huile de cèdre et d'abaisser le tube du microscope. Il est utile de se rappeler :

Précautions pour l'examen.

1° Que la face supérieure du deckglass doit être bien sèche avant d'y déposer l'huile de cèdre ;

2° Que le tube du microscope doit avoir une longueur déterminée et qu'il doit être abaissé doucement jusqu'au niveau de la préparation ;

3° Que le diaphragme, sous l'appareil d'Abbe, doit être ouvert complètement ;

4° Qu'il faut mettre au point, une fois que l'objectif touche l'huile, avec la vis micrométrique et jamais avec la crémaillère ;

5° Qu'il faut s'assurer si le miroir réflecteur est bien dirigé et s'il donne le maximum de lumière.

Lorsque la préparation doit être conservée, au lieu de retourner le deckglass après lavage sur le porte-objet, on le sèche doucement entre

deux feuilles de papier buvard, on le passe rapidement, en le tenant dans les doigts, au-dessus de la flamme pour compléter la dessiccation et on le dépose sur le porte-objet qu'on a recouvert préalablement d'une gouttelette de baume de Canada, dissous dans du xylol.

CHAPITRE II

La Technique bactériologique.

I. — *Instruments et appareils.*

Instruments et appareils.

Toutes les opérations pratiquées en bactériologie doivent être naturellement faites dans des conditions d'aseptie rigoureuse. Tous les instruments devront être chauffés avant l'emploi. On devra se servir d'ustensiles absolument stériles et se rappeler constamment que l'air qui nous entoure est chargé de microbes qui, à la moindre inattention de l'opérateur, viendront contaminer les milieux de culture et les rendre impropres aux recherches. Le but de la plupart des expériences bactériologiques est d'arriver à l'isolement d'une espèce microbienne afin de pouvoir étudier ses caractères morphologiques, biologiques et pathogènes.

Cette aseptie absolument rigoureuse que nous exigeons dans nos travaux nous pouvons l'obtenir par différents procédés qui se réduisent à cinq méthodes principales :

1° La flamme d'un brûleur de Bunsen ;

2° La chaleur sèche à 160° et au-dessus ;

3° La chaleur humide à 120° (autoclave) ;

4° La chaleur à 100° ;

5° La bougie Chamberland ou Berkefeld (procédé mécanique).

Méthodes de stérilisation.

1° *Flamme*. On se servira du bec de Bunsen pour stériliser les aiguilles de platine, les petits instruments (ciseaux, scalpels) qui auront été contaminés ;

2° *Chaleur sèche*. On utilisera la chaleur sèche à 160° pour désinfecter tous les objets en verre (ballons, flacons, pipettes, etc.). Les récipients seront fermés avec un bouchon d'ouate hydrophile avant de les déposer à l'étuve sèche. L'air qui en est chassé pendant le chauffage, rentre dans les flacons après refroidissement et les bactéries en suspension sont arrêtées sur l'ouate. Les ustensiles divers (pipettes, seringues), qui sont conservés à l'état stérile jusqu'à l'emploi, doivent être enveloppés dans du papier buvard et déposés tels quels dans l'appareil. L'instrument employé pour cet usage est une grande boîte en tôle, à doubles parois, munie

à sa partie inférieure d'un fort brûleur de Bunsen. Le premier ferblantier venu peut construire cet appareil. Il faut éviter de dépasser 160°, car au-dessus de cette température on voit l'ouate commencer à brunir. Les objets séjournent dans l'étuve sèche trois quarts d'heure ou une heure. Le réglage de cet appareil se fait directement par la flamme ou au moyen d'un thermorégulateur spécial. Il est recommandable de laisser les objets refroidir dans l'étuve : en les exposant trop brusquement à l'air lorsqu'ils sont encore chauds, on risque de les casser ;

3° *Autoclave.* La chaleur humide à 120° est fournie par l'autoclave Chamberland ou marmite de Papin, qui consiste en un récipient solide en cuivre au fond duquel se trouve une petite quantité d'eau. Le couvercle de l'appareil est solidement appliqué au moyen de boulons et d'écrous. On chauffe avec une couronne de becs de Bunsen et lorsque la vapeur atteint une pression de 1 atmosphère (120°), on arrête le chauffage. La durée du séjour des objets à l'autoclave varie de un quart d'heure à une heure. C'est un moyen de stérilisation très sûr. Il est employé pour tous les milieux de culture : et il a l'avantage de fonctionner très rapidement. C'est un appareil dispendieux qui doit être réservé aux laboratoires. L'appareil suivant plus

économique peut le remplacer dans la plupart des cas.

4° *Poêle à vapeur*. La chaleur humide à 100° est produite par le stérilisateur de Koch, dit « poêle à vapeur » : C'est un récipient cylindrique contenant plusieurs litres d'eau chauffée à 100°. La vapeur qui se dégage échauffe les récipients déposés dans l'appareil et s'échappe par une ouverture centrale pratiquée dans le couvercle. Un système à niveau constant permet d'appliquer l'instrument à une distribution d'eau en produisant un courant continu qui permet de laisser brûler l'appareil en tout temps sans surveillance. La stérilisation obtenue de cette façon est moins sûre que celle que donne l'autoclave. Les objets doivent séjourner dans le poêle à vapeur pendant une heure, deux ou trois jours consécutifs. Certaines spores, qui n'auraient pas été tuées à la première opération, peuvent ainsi végéter et être détruites la seconde fois. Le praticien pourra se faire construire un appareil de ce genre à peu de frais. (Cylindre en fer blanc recouvert de feutre ou de linoleum de $0^m,40$ de hauteur, $0^m,20$ de diamètre, avec un fond en toile métallique reposant à $0^m,10$ de l'extrémité inférieure. Couvercle conique avec un trou central.)

Stérilisation fractionnée. Les objets qui ne

supportent pas 100°, peuvent être portés pendant plusieurs jours à 55°. On répète cette opération pendant cinq à six jours durant deux heures. Ce mode de stérilisation est réservé pour les liquides albuminoïdes qui ne supportent pas une température élevée (sérum, etc.);

5° Un procédé de stérilisation mécanique nous est fourni par les bougies de porcelaine dont les pores sont suffisamment étroits pour empêcher le passage des bactéries. Ces bougies servent à filtrer l'eau d'alimentation dans certains pays; on s'en sert dans les laboratoires pour filtrer des liquides qu'on ne désire pas chauffer ; lorsque ces liquides sont assez épais, on peut les faire passer sous pression, au moyen d'une pompe d'Arsonval.

II. — *Les Milieux de culture.*

Milieux de culture

Les milieux nutritifs les plus usités en bactériologie sont le bouillon de viande, l'agar ou gélose et la gélatine.

A. Le *bouillon* est préparé en hachant 500 grammes de viande, sans graisse, qu'on fait macérer pendant douze heures, puis bouillir dans un litre d'eau. On filtre, on ajoute 1 p. c. de peptone et 1/2 p. c. de sel, on neutralise au moyen du $Co^3 Na$. Refiltrer (le papier bleu de

tournesol doit rester bleu', passer à l'autoclave et essayer à nouveau la réaction qui change souvent après le chauffage.

B. L'*agar* est préparé en additionnant le bouillon de 2 p. c. d'agar-agar, un lichen (*Gelidium spiniforme*) qu'on trouve dans le commerce, plus ou moins purifié. Ce milieu est celui qui sert le plus généralement. Il a la propriété de ne fondre que vers 90° et, en refroidissant, il devient solide vers 50°.

C. La *gélatine* est préparée de la même façon que l'agar : on ajoute au bouillon 10 p. c. de gelatine. Ce milieu fond vers 25°. Il doit donc être conservé dans des étuves à température constante ne dépassant pas 20°.

L'agar et la gélatine sont filtrés dans le poêle à vapeur.

On a décrit un grand nombre d'autres méthodes de culture des bactéries.

Pendant longtemps, les cultures sur sérum solidifié ont été à la mode. On tend à les abandonner de plus en plus. Même pour le diagnostic de la diphtérie, le sérum ne présente aucun avantage sur l'agar sérum.

Comme milieu de culture solide, on se sert parfois de tranches de pomme de terre. (V. le diagnostic du typhus.)

La *préparation des tubes de culture* (bouil-

lon, gélatine, agar) est excessivement simple : les tubes sont bouchés à l'ouate et stérilisés. On y verse 2 à 4 c. c. de bouillon, au moyen d'une pipette. L'agar doit être mis en tube avec précaution afin de ne pas souiller l'orifice auquel le bouchon d'ouate adhérerait après refroidissement. Préparation des tubes.

La *préparation des plaques* n'offre aucune difficulté spéciale : pour les plaques d'agar, on se sert en général de plaques préparées d'avance, dans lesquelles le milieu a été répandu plusieurs jours avant l'emploi. Les plaques de gélatine se préparent souvent extemporanément. Les plaques.

III. — *Les Méthodes de culture.*

Lorsqu'on désire isoler les bactéries contenues dans un liquide pathologique, du pus, par exemple, la première opération consiste à faire une ou plusieurs cultures sur plaques : Isolement des bactéries.

On se sert à cet effet de boîtes de verre de $0^m,10$ de diamètre à large couvercle, dites *plaques de Petri*, dans lesquelles on a versé, après stérilisation, quelques centimètres cubes d'agar nutritif chauffé. Ces plaques se conservent assez longtemps : On peut donc les préparer d'avance.

Au moyen d'une aiguille de platine, dont l'extrémité est terminée en O, on ensemence une gouttelette de liquide à la surface de l'agar en découvrant la plaque et en la tenant *verticalement* (si on la tient horizontalement les bactéries de l'air viennent se déposer sur le milieu), on trace une spirale à la surface du milieu nutritif, en appuyant l'aiguille de platine très légèrement pour ne pas entamer l'agar.

Pour l'isolement des bactéries, on peut encore se servir de gélatine nutritive (10 p. c. dans du bouillon). Dans ce but, on répartit des parcelles de substance infectée dans les tubes de gélatine maintenus à 40° au bain-marie. S'il s'agit de pus ou de liquides renfermant un grand nombre de bactéries, il est bon de diluer au préalable dans l'eau stérile au 10e, au 100e et au 1000e.

Pendant que les tubes de gélatine sont encore chauds on en répartit le contenu dans des plaques de Petri stérilisées qu'on dépose à l'étuve à 20° pendant quelques jours.

Ce procédé qui a servi anciennement à Koch pour démontrer l'isolement des bactéries et l'obtention des cultures pures est généralement remplacé aujourd'hui par le procédé des plaques d'agar décrit plus haut. On s'en sert cependant encore pour l'analyse quantitative des eaux

potables et la numération des bactéries qu'elles renferment.

Nous avons vu que les plaques et les tubes ensemencés sont déposés à l'étuve à 37° lorsqu'il s'agit de bouillon et d'agar et à l'étuve à 20° lorsqu'il s'agit de gélatine.

Etuves à cultures.

Les étuves à température constante dont on se sert le plus souvent sont des armoires à doubles parois chauffées tantôt par une circulation d'air chaud, tantôt par de l'eau chaude.

Le premier modèle (étuve de Pasteur) est constitué par une grande armoire en bois, divisée en un certain nombre de compartiments qui sont inégalement chauffés. La température qui va en décroissant vers la partie supérieure présente une différence de 2° par étage. L'uniformité de la température est obtenue par un thermo-régulateur de Roux.

Celui-ci se compose de deux lames, l'une de zinc, l'autre d'acier, soudées ensemble et recourbées en forme d'U. La branche gauche est fixe, l'autre se meut suivant les variations de la température et règle l'admission du gaz dans les brûleurs. Le prix de cet appareil est assez élevé (500 francs).

Nous préférons beaucoup l'autre type d'étuve qui est constitué par une armoire en cuivre à doubles parois renfermant une grande quantité

d'eau. Les thermo-régulateurs adaptés à ces appareils sont très sensibles et contiennent de l'éther et du mercure. Ces étuves peuvent se chauffer, soit par des brûleurs à gaz, soit par des lampes à pétrole, actionnant un régulateur électrique très sensible. Ces étuves se règlent facilement à un demi-degré près. On en trouve dans le commerce depuis 200 francs environ.

Après avoir ensemencé la plaque, on la dépose à l'étuve, le *couvercle en bas*, donc retournée, pour éviter l'évaporation du milieu et le dépôt de gouttes d'eau à la face inférieure du couvercle.

Colonie microbienne.

Au bout de vingt-quatre heures, chaque microbe déposé à la surface de l'agar au moyen du fil de platine, a donné lieu à la formation d'une *colonie microbienne*, amas de microbes arrondi et isolé. Cette colonie microbienne est observée à l'œil nu, puis au microscope, à un faible grossissement. La main droite armée d'un très mince fil de platine monté sur tige sur verre, on s'efforce de *pêcher* cette colonie en prenant comme point d'appui l'angle postérieur droit de la platine du microscope et en tenant l'aiguille à la façon d'un porte-plume. Cette opération est très délicate mais de la plus haute importance : dans chaque laboratoire de bactériologie elle se répète cinquante fois par jour.

Le procédé de culture sur plaque est donc une méthode d'isolement des bactéries.

Pour conserver une espèce microbienne isolée et étudier en détail ses caractères biologiques, on fait des cultures en TUBES (bouillon, agar, gélatine).

Les microbes pêchés sur les plaques avec le fil de platine sont introduits aseptiquement dans un tube contenant 2-3 centimètres cubes de bouillon. On peut également promener l'aiguille à la surface d'un tube d'agar.

Culture des anaérobies.

Certains microbes ne se développent pas en présence de l'oxygène; leur culture nécessite une technique spéciale.

La culture des *microbes anaérobies* se fait de deux façons : ou bien en empêchant l'accès de l'oxygène dans la culture, ou bien en pratiquant cette culture dans un autre gaz, notamment l'hydrogène ou le gaz d'éclairage.

A. *Méthodes sans oxygène.*

a) Elle consiste à obtenir une culture en piquant les bactéries au moyen de l'anse de platine dans l'épaisseur de la gélatine ou de l'agar. De cette façon les microbes sont à l'abri de l'oxygène. Pour plus de précautions on recouvre encore le milieu d'un peu d'huile ou de paraffine liquéfiée.

b) On peut également ensemencer des plaques

ou des tubes comme on le fait d'habitude et les conserver dans le vide sous une cloche. Celle-ci est déposée à l'étuve à 37°.

B. *Méthode à l'hydrogène.*

Cette méthode convient surtout pour les cultures en bouillon. On fait passer un courant d'hydrogène dans le liquide après ensemencement et on ferme à la lampe après avoir eu soin de paraffiner le bouchon de caoutchouc fermant le tube ou le ballon. Le tube qui amène le gaz doit plonger jusqu'au fond du liquide. Pour éviter les explosions, il est bon d'employer comme tube de sortie un petit tube coudé avec deux ampoules dont l'une est remplie de mercure. Lorsque le ballon est penché, le mercure se place dans l'une des ampoules et permet la sortie du gaz; dans la position verticale, le mercure retombe dans le tube coudé et vient obturer complètement celui-ci. L'hydrogène est fourni par un appareil de Kipp avec deux flacons laveurs d'acétate de plomb et d'acide pyrogallique.

Isolement des microbes anaérobies.

La plupart de ces espèces supportent, grâce à leurs spores, une température de 60° prolongée, pendant une demi-heure. On peut donc utiliser cette propriété pour séparer du liquide à analyser des microbes de contamination qui empê-

chent l'identification des anaérobies et qui sont tués à cette température. On peut souvent d'emblée obtenir une culture pure de cette façon.

Les anaérobies pathogènes pour l'homme actuellement connus sont le tétanos, le charbon symptomatique et le bacille de l'œdème malin.

Quels sont, en résumé, les instruments indispensables pour pratiquer une analyse bactériologique ?

1° Le microscope et ses accessoires ;

2° Quelques verreries : porte-objets, deck-glass, plaques de Petri, ballons à fonds plats, flacons d'Erlenmeyer, tubes de cultures très minces et sans rebords, etc. ;

3° Quelques réactifs colorants : bleu de Löffler, Ziehl, Gram ;

4° Pour les cultures :

a) Substances nutritives (bouillon, agar, gélatine) ;

b) Un poêle à vapeur pour stériliser les milieux nutritifs ;

c) Une étuve sèche pour stériliser les verreries ;

d) Une étuve à température constante à 37 degrés (modèle simple, chauffage au pétrole).

On voit donc qu'il faut en réalité peu de chose pour monter un laboratoire de bactériologie clinique.

Expérimentation : L'expérimentation sur les *animaux* se pratique principalement sur les souris, les cobayes et les lapins.

1° Souris. *Souris*. Les souris blanches constituent un excellent réactif pour déceler la virulence ou même la présence des streptocoques et des pneumocoques.

Les injections se pratiquent sous la peau du dos avec des seringues à piston d'asbeste facilement stérilisables. Il est prudent de ne pas injecter plus de 2 grammes de liquide à la fois.

Les souris peuvent servir à démontrer la présence du bacille du tétanos dans du pus ou dans des exsudats pathologiques : l'inoculation se pratique alors à la base de la queue et les symptômes typiques s'observent déjà après vingt-quatre heures (immobilité, yeux fermés, contractures, etc.).

On manie le plus facilement les souris en les faisant saisir à la nuque par un aide muni d'une longue pince qu'il tiendra de la main gauche, tandis que la main droite étalera l'animal sur une table, en tirant légèrement par la queue.

2° Cobayes. Les cobayes sont beaucoup employés. On peut leur pratiquer différentes opérations dont les principales sont :

1° *Injections sous-cutanées :* L'animal est tenu par un aide qui de la main droite relève les

pattes de devant contre la tête de l'animal et prend les deux pattes postérieures dans la main gauche. Il présentera le dos de l'animal à l'opérateur. Les injections se pratiquent au moyen de seringues à piston d'asbeste. Les canules en platine iridié sont très pratiques pour cet usage. Elles peuvent être stérilisées à la flamme. Il faut avoir soin de suivre les progrès de l'injection avec la main qui tend la peau, afin de constater si le liquide a été répandu dans le tissu cellulaire sous-cutané ;

2° *Injections intra-péritonéales* : L'animal est tenu horizontalement par un aide. On pratique une très petite boutonnière dans la peau du ventre et au moyen d'une canule mousse (qui évite les blessures de l'intestin) on passe facilement à travers les muscles de l'abdomen. L'injection est poussée lentement. Inutile de refermer la plaie produite ;

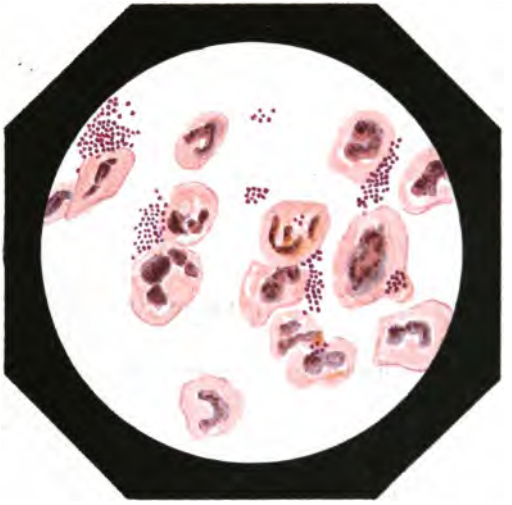
3° *Injections intra-veineuses* : Mettre une veine jugulaire à nu et, après ligature provisoire, introduire une canule qu'on fixe à la paroi du vaisseau. L'injection se pratique dans le sens du courant sanguin ;

4° *Injections intra-stomacales* : On peut, dans certaines circonstances, constater l'effet désiré des inoculations intra-stomacales (choléra, typhus, etc). Il suffit de passer une sonde

molle dans l'estomac du cobaye, d'injecter une légère quantité de carbonate de soude pour neutraliser l'acidité du suc gastrique et d'introduire ensuite la culture. On a eu soin d'immobiliser l'intestin par une injection intra-péritonale de 1 c. c. de teinture d'opium (méthode de Koch).

3° Lapins. Les *lapins* subissent les mêmes manipulations : injections intra-veineuses (dans les veines de l'oreille), injections sous-cutanées et injections intra-péritonéales.

Dans certains cas (tuberculose) l'inoculation dans la chambre antérieure de l'œil pourra rendre des services. Les progrès de la lésion se suivent parfaitement à l'œil nu.



STAPHYLOCOQUES DANS DU PUS (GRAM)

STREPTOCOQUES EN CULTURE PURE (FUCHSINE)

CHAPITRE III

L'Examen bactériologique du pus.

I. — *Les Suppurations en général.*

La suppuration est considérée, en général, comme la réaction de l'organisme contre certaines substances nuisibles (composés chimiques, bactéries, produits bactériens).

Expérimentalement, on peut produire de la suppuration avec un grand nombre de substances aseptiques ; mais en clinique, la suppuration est toujours liée à la présence de microbes ou de toxines microbiennes.

Les véritables agents de la suppuration chez l'homme sont les staphylocoques (microcoques réunis en amas, en grappes) et les streptocoques (microcoques en chaînes).

En dehors de ces agents habituels de la suppuration, on retrouve encore dans le pus les bactéries suivantes :

a) Le gonocoque (réaction de la muqueuse urétrale) et le méningocoque (méningite épidémique);

b) Le bacille du chancre mou;

c) Le pneumocoque (otites, conjonctivites, etc.);

d) Le bacile typhique ou le bacterium coli;

e) Le bacille du tétanos (suppuration locale);

f) Le bacille de la tuberculose (agent fréquent de suppurations chroniques);

g) Le streptothrix de l'actinomycose (affection assez rare).

Outre les microbes que nous venons de citer, on rencontre un certain nombre d'autres bactéries pouvant produire des suppurations, étant donné que le pus est le produit de la réaction de l'organisme contre toute invasion microbienne.

Les microcoques de la suppuration peuvent exercer leur action localement (abcès) ou bien se répandre dans la circulation et donner lieu à des septicémies rapidement mortelles. — Pour quelques espèces, le tétanos, par exemple, on constate que l'action des bactéries reste locale, mais il s'établit une intoxication rapide de tout

l'organisme par sécrétion de poisons microbiens à l'endroit de l'infection.

Isolement des microbes du pus : Isolement.

a) Examen microscopique direct : Les préparations de pus colorées pour l'examen direct ne permettent pas d'établir un diagnostic bactériologique précis. Les staphylocoques et les streptocoques se différencient mal par l'examen direct; le gonocoque seul peut être décelé par cette méthode à condition d'employer le Gram. Notons encore que le bacille du chancre mou se reconnaît souvent à l'examen direct ainsi que l'actinomycose. Le bacille de la tuberculose se retrouve difficilement dans les suppurations spécifiques; sa recherche nécessite toujours l'inoculation aux animaux;

b) Cultures : Les cultures sur plaque d'agar conviennent pour la plupart des cas : il suffit de frotter un petit tampon enduit de pus ou une anse de platine chargée de liquide à la surface du milieu nutritif, pour voir se développer, après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve, les colonies caractéristiques de staphylocoques (blancs ou jaunes), de streptocoques, de bacterium coli, etc.

Si rien ne s'est développé après un jour, il est recommandable de faire une culture dans le vide pour constater la présence d'anaérobies ou

d'expérimenter sur des cobayes (tuberculose);

c) ***Expérimentation*** : L'inoculation aux animaux est recommandable pour tous les cas suspects de tuberculose (inoculation intra-péritonéale au cobaye), de tétanos (inoculation sous-cutanée à la souris) et de pneumocoque (également à la souris).

II. — *Les Staphylocoques.*

Ces microcoques, très répandus dans la nature, ont été décrits en 1881 par Ogston.

Examen direct. ***Caractères morphologiques.*** — Coccus arrondi, de 1 μ de diamètre. — Ils se présentent en amas irréguliers, en grappes. — On peut les colorer par toutes les couleurs d'aniline; ils conservent très bien le Gram.

Cultures. ***Caractères biologiques.*** — En bouillon : ce microbe pousse très facilement. Il trouble fortement le liquide et produit un dépôt abondant au fond du tube. Cultivé sur gélatine, il liquéfie ce milieu rapidement Sur agar, il donne des colonies se développant en quelques heures. D'après l'aspect de ces colonies sur gélose, on distingue:

1° Le staphylocoque doré, produisant des colonies d'un beau jaune d'or;

2° Le staphylocoque blanc, donnant des colonies blanches, laiteuses;

3° Le staphylocoque citrin, donnant des colonies jaune pâle.

Les staphylocoques blancs et dorés se trouvent indifféremment dans les suppurations les plus diverses.

La résistance du staphylocoque est très grande : ce microbe supporte une dessiccation prolongée et sert fréquemment comme réactif de contrôle dans les expériences de désinfection.

Il produit une toxine dans les bouillons de culture, qui résiste bien à la chaleur ; on a même essayé de reproduire des suppurations avec un extrait des cultures (phlogosine). On connaît deux produits toxiques solubles sécrétés par le staphylocoque : la staphylolysine (une espèce d'hémolysine) et la leucocidine (action spéciale sur les globules blancs, démontrée par la méthode bioscopique du bleu de méthylène d'Ehrlich).

Inoculations :

Caractères pathogènes.

a) *Chez l'homme*, le staphylocoque est le microbe habituel du pus.

Il produit les furoncles, l'anthrax, certains abcès ; on le retrouve fréquemment dans les angines, les otites, le pus de l'empyème. Il peut donner lieu à des métastases dans les organes internes. C'est l'agent éthiologique habituel des ostéomyélites ;

b) Chez les animaux, le staphylocoque produit des abcès, spécialement en inoculation sous-cutanée chez le chien.

Il est pathogène pour le lapin ; les effets obtenus varient d'après l'endroit de l'infection ; sous la peau, il produit généralement des abcès, dans le péritoine, il donne des péritonites rapidement mortelles et en inoculation intraveineuse, il peut produire des lésions valvulaires du cœur.

Le staphylocoque a peu d'action sur le cobaye.

L'immunité contre le staphylocoque n'a pas été beaucoup étudiée : on parvient à immuniser activement, au moyen de doses progressivement croissantes, la plupart des animaux de laboratoire. L'immunité passive est moins connue : tous les essais de sérothérapie ont échoué jusqu'ici.

III. — *Les Streptocoques.*

Les streptocoques ont une importance plus grande que les staphylocoques au point de vue de la pathologie infectieuse, les affections qu'ils produisent étant généralement plus graves. Ces microbes ont été bien décrits par Ogston en 1881 et Fehleisen en 1883.

Examen direct :

Coccus arrondi, de dimensions variables (1 μ et plus) ; se présentent en chaînes plus ou moins allongées; se colorent très facilement et prennent le Gram.

Leur différenciation en espèces distinctes est encore à l'étude.

Cultures : Caractères biologiques.

En *bouillon* : Croissance abondante, surtout dans le bouillon glucosé. Sédiment floconneux plus ou moins abondant, le liquide restant généralement clair ou à peine troublé.

Pour conserver la virulence du streptocoque en milieu liquide, on recommande de le cultiver dans le mélange suivant :

Sérum humain, 2 parties;
Bouillon peptonisé, 1 partie (Marmorek)

Sur *gélatine*, donne de petites colonies granuleuses. Ce milieu n'est *pas* liquéfié.

Sur *agar*, petites colonies hyalines; parfois petites colonies très foncées, granuleuses.

Le streptocope résiste assez bien à la dessiccation.

La virulence se maintient par des passages sur les animaux sensibles (lapins).

Chez l'homme, le streptocoque est l'agent étiologique de l'érysipèle. On le rencontre dans certains abcès, dans les angines, les endocar- Caractères pathogènes.

dites, etc. Il peut envahir l'organisme et produire des septicémies graves (infection puerpérale); c'est l'agent habituel des infections mixtes dans la tuberculose pulmonaire.

Chez les animaux, l'action varie d'après la virulence.

En général, le lapin et la souris sont très sensibles à son action.

Immunité. L'immunité antistreptococcique a fait l'objet d'un grand nombre de travaux.

Le sérum obtenu par l'inoculation de doses croissantes de bouillon virulent chez le cheval semble doué de propriétés bactéricides spécifiques.

Le serum le plus actif semble être celui d'Aronson qui préserve une souris contre l'infection mortelle à la dose de 1 milligr. Le pouvoir agglutinant de ce serum est très marqué.

Les résultats de la sérothérapie antistreptococcique ont été peu encourageants jusqu'ici, ce qui tient en grande partie à la mauvaise qualité des sérums qu'on trouve généralement dans le commerce.

IV. — *Le Gonocoque.*

Le gonocoque a été décrit par Neisser en 1879. C'est l'agent spécifique de la blennorrhagie.

Examen direct :

Caractères morphologiques.

Son aspect est typique : Petits microcoques présentant la forme de deux haricots réunis et se regardant par leur face concave. Ils mesurent 1 μ de long sur 0.5 à 0.6 μ de large.

Les gonocoques se trouvent en abondance dans le pus spécifique, tantôt en amas dans le liquide, tantôt à l'intérieur des globules blancs. Ils se *décolorent* par la méthode de Gram.

Ce caractère est très important, car il permet la différenciation du gonocoque et des espèces similaires non spécifiques qu'on rencontre parfois dans les sécrétions purulentes.

Précautions pour l'emploi de la méthode de Gram :

Colorer la préparation trois minutes à froid avec le violet, laisser agir l'iode trois minutes, puis décolorer à l'alcool au moins une minute ou laisser agir pendant vingt secondes l'alcool-acétone (acétone 1 et alcool 5). Laver et colorer à l'éosine ou à la vésuvine (solution alcoolique à 10 p. c. dans de l'eau au 1/3).

Le gonocoque se colore très bien par la méthode de Neisser (bleu de méthylène et éosine) :

1° Solution alcoolique d'éosine (à chaud);
2° Sécher;
3° Solution alcoolique de bleu de méthylène;
4° Laver à l'eau.

Les gonocoques et les noyaux sont colorés en bleu ; le protoplasme en rose.

Caractères biologiques.

Cultures :

Le gonocoque ne se développe pas sur les milieux ordinaires.

Les méthodes suivantes ont été recommandées :

A. *Milieu de Bumm.* Sérum humain coagulé. (Les colonies restent fort petites.)

B. *Milieu de Wertheim.* Sérum humain 1 partie ; agar peptonisé, 2 parties. (Croissance très faible, peu favorable.)

C. *Milieu de Kiefer.* Mélange d'agar peptonisé-glycériné 1 p. c. 3 parties et liquide d'ascite 1 partie. (On constate un certain développement après quarante-huit heures de séjour à l'étuve.)

D. *Milieu de Christmas.* Sérum de lapin coagulé. (Croissance médiocre, mais non moins abondante que sur sérum humain.)

E. *Milieu de Wassermann.* Sérum de porc et nutrose : On mélange 15 gr. de sérum de porc, 30 gr. d'eau, 2 gr. de glycérine et 1 gr. de nutrose.

On fait bouillir pendant vingt minutes.

On ajoute parties égales d'agar peptonisé maintenu à 50°.

Caractères pathogènes.

Inoculations :

Tous les animaux sont réfractaires à l'inocu-

lation urétrale ou conjonctivale. Chez la souris on a obtenu une péritonite.

On le retrouve dans toutes les affections blennorrhagiques (urètre, vessie, vagin). Sa présence dans les globules blancs est un signe favorable : phagocytose. Il peut produire des complications par métastase (arthrites, etc.) ou par transport direct (conjonctivite, etc.).

Au point de vue médico-légal, le diagnostic de la présence du gonocoque est difficile : il exige une grande prudence, car on sait qu'il peut y avoir transport banal et indirect de l'agent microbien spécifique.

L'immunité est inconnue.

Récolte et examen du pus blennorrhagique. Pour examiner du pus suspect, laver le méat avec de l'eau stérile et recueillir une gouttelette avec une aiguille de platine ou un instrument quelconque passé au préalable dans la flamme. Frotter sur un deckglass et laisser sécher. L'examen peut se faire ultérieurement.

Dans l'état actuel de nos connaissances, on peut considérer tout diplocoque à forme spéciale en haricot et se décolorant complètement par le Gram comme du gonocoque. Le micrococcus subflavus de Bumm et le micrococcus albicans qui ont été retrouvés dans le mucus vaginal normal restent colorés par cette méthode;

au point de vue morphologique, ils sont identiques au gonocoque.

Pour isoler ce microbe du pus et en obtenir des cultures, il faut ensemencer le liquide sur du sérum de lapin coagulé.

Après douze heures, on constate déjà la présence de petites colonies transparentes, d'aspect visqueux. Les autres bactéries qui se trouvaient dans le pus ne sont pas encore développées.

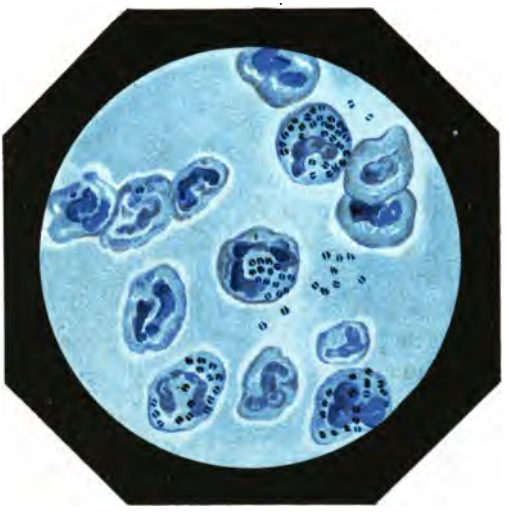
Les cultures liquides se font le plus facilement dans un mélange de bouillon ordinaire (3 parties) et de liquide d'ascite (1 partie).

Méningocoque. Signalons en passant un microcoque qui ressemble beaucoup au gonocoque et qui est considéré comme l'agent étiologique de la *méningite cérébro-spinale épidémique* (Weichselbaum). Ce diplocoque se décolore également par la méthode de Gram. Il se trouve en amas intracellulaire et pousse facilement sur agar glycériné en donnant des colonies arrondies granuleuses, bien développées en quarante-huit heures.

Cette affection est très rare dans notre pays.

V. — *Le Bacille du chancre mou.*

Ce bacille a été décrit en 1889 par Ducrey et peut être considéré comme l'agent étiologique du chancre mou.



GONOCOQUES DANS DU PUS BLENNORRHAGIQUE

EXSUDAT DIPHTÉRIQUE (GRAM)
(STAPHYLOCOQUES, STREPTOCOQUES ET BACILLES DE LŒFFLER)

Sa recherche offre une grande importance puisque sa présence permet de reconnaître un chancre mou d'un chancre syphilitique.

Caractères morphologiques :

Streptobacilles de 2 μ de long sur 1 μ de large, se présentant généralement en longues chaînes. Se décolore par la méthode de Gram. On le colore facilement dans le pus par le bleu de Löffler.

Dans les coupes (chancre excisé) on peut le colorer d'après la méthode de Unna :

1° Coloration au bleu de méthylène polychrome ;

2° Laver à l'eau ;

3° Porter dans un mélange d'éther et de glycérine ;

4° Laver à l'eau et à l'alcool.

Caractères biologiques :

On n'est pas parvenu à cultiver ce bacille.

Caractères pathogènes :

Peut être inoculé au singe et au lapin. (Nicolle.)

VI. — *Suppurations dues à l'actinomycose.*

Actinomycose.

L'actinomycose est une affection se transmettant des bovidés à l'homme et caractérisée par la présence, dans le pus, d'un végétal appar-

tenant au groupe des streptothrix. (Intermédiaires entre les hyphomycètes ou moisissures et les bactéries.) Certaines formes de ce végétal rappellent les filaments qu'on a décrit dans quelques cultures de tuberculose et de diphtérie.

Caractères morphologiques :

L'actinomycose se présente dans le pus sous forme de grains jaunes, déjà visibles à l'œil nu. Chaque granulation est formée d'une masse centrale d'où partent des rayons divergents terminés par des renflements en massue.

Se colore très bien par la méthode de Gram.

Caractères biologiques :

L'actinomycose se cultive sur agar glycériné. Sa croissance est lente; les colonies épaisses, sèches, blanches sont très adhérentes au milieu. Pour l'isoler dans le pus, il est utile de le cultiver dans le vide (anaérobie facultatif). On obtient souvent d'emblée une culture pure.

Caractères pathogènes :

Chez l'homme, l'actinomycose peut occasionner des lésions très diverses, généralement localisées à la face (mâchoire).

Chez les animaux, cette affection se rencontre plus fréquemment (mâchoire inférieure du bœuf).

VII. — *Le Tétanos.*

Décrit en 1884 par Nicolaïer, le bacille du tétanos est un anaérobie vrai.

Caractères morphologiques :

Bacilles allongés, de 4-5 μ, munis à une extrémité d'une spore sphérique, leur donnant la forme d'un clou.

Restent colorés par la méthode de Gram.

Caractères biologiques :

Les spores du tétanos résistant à une température de 80° pendant six heures au moins, on a trouvé, grâce à cette particularité, le moyen d'isoler le bacille en culture pure.

Dans le bouillon, le bacille pousse rapidement si le milieu est maintenu en atmosphère d'hydrogène. Le liquide se trouble très rapidement. Odeur infecte.

Le bouillon renferme la toxine. (Brieger.) On connaît bien deux éléments de cette toxine : la tétanolysine (substance hémolytique, dissolvant les globules rouges) et la tétanospasmine (toxine vraie).

En piqûre dans la gélatine purgée d'air, le tétanos se développe en liquéfiant lentement le milieu ; il se dégage des bulles gazeuzes. Cultivé en épaisseur dans l'agar, le tétanos produit

des fentes dans la gélose avec dégagement de gaz odoriférants

On peut encore cultiver le bacille du tétanos à l'air libre, en ajoutant au bouillon un peu de sulfure de soude (5 gouttes de la solution à 1 p. c. par tube de 10 gr. de bouillon).

Caractères pathogènes :

Le tétanos est le type de la maladie toxique à infection locale (suppuration) et à intoxication générale.

Les souris, les rats et les cobayes sont très sensibles.

Immunité : Bien connue depuis les travaux de Behring et Kitasato et ceux de Roux et Vaillard. On immunise très facilement les chevaux en vue d'obtenir un sérum antitoxique par l'injection de doses progressivement, mais lentement croissantes de toxine tétanique. (Voir plus loin, la sérothérapie du tétanos.)

Recherche du bacille tétanique : *a*) Dans le pus, on peut pratiquer l'examen direct (méthode de Gram) et grâce à leur forme spéciale, on reconnaîtra souvent d'emblée les bacilles spécifiques. Confirmer cet examen par l'inoculation sous-cutanée à la souris (à la base de la queue);

b) Dans les examens du sol, où le tétanos est associé à un grand nombre d'autres bactéries,

on fait une émulsion qu'on chauffe à 80° et qui donne souvent le tétanos en culture pure. Il faut toujours contrôler l'examen des cultures par l'inoculation aux animaux, qui seule donne un résultat certain.

VIII. — *Suppurations produites par la tuberculose, le pneumocoque, le bacille typhique et le bacterium coli.*

Tuberculose.

Le bacille de la tuberculose produit fréquemment des suppurations chroniques, des abcès froids, des ostéites, etc.

Il est fort difficile de démontrer sa présence dans le pus. Les cultures ne donnent pas plus de résultat que l'examen des préparations colorées.

La méthode de choix est l'inoculation au cobaye (péritoine) ou au lapin (chambre antérieure de l'œil).

Pneumocoque.

Le *pneumocoque* se rencontre dans le pus de certaines otites, dans quelques conjonctivites, même dans certaines arthrites.

Il peut être décelé assez aisément par l'examen direct au moyen de la méthode de Gram. En cas de doute, l'inoculation à la souris d'une goutte de liquide suspect est préférable à l'isolement par les cultures.

Bacille typhique.

Le *bacille typhique* peut également produire des suppurations; ces cas sont extrêmement rares; le siège de ces lésions est généralement dans les os (ostéomyélites, périostites). Plus souvent, il s'agit de suppurations secondaires produites par des saprophytes (staphylocoques, streptocoques, bacterium coli).

Le *colibacille* peut également donner lieu à des suppurations et pulluler dans les organes internes.

Ces deux bacilles seront isolés par les méthodes ordinaires de cultures sur plaques citées plus haut et diagnostiqués d'après les différents caractères que nous indiquerons à propos de la recherche des microbes pathogènes dans les eaux.

IX. — *La Peste bubonique.*

Il n'entre pas dans le cadre de ce manuel, qui doit rester avant tout pratique, de décrire les microbes de toutes les maladies infectieuses. Les épidémies récentes de peste bubonique nous engagent cependant à résumer les caractères principaux du bacille spécifique de cette affection.

Caractères morphologiques :

A l'examen direct des préparations, ce microbe se présente sous la forme d'un bâtonnet court à

extrémités arrondies. Il a généralement une forme ovalaire typique et un espace clair plus ou moins allongé au centre du bacille.

Caractères biologiques :

En bouillon, il se développe sous forme de flocons plus ou moins isolés et surtout abondants au fond du tube.

Ces bacilles s'allongent souvent en chaînes qui forment de vrais streptobacilles.

La *gélatine* n'est pas liquéfiée.

Sur agar, il y a croissance abondante et rapide.

Caractères pathogènes :

Ce bacille produit les symptômes de la peste en se localisant en grande quantité dans le pus des bubons.

Il produit dans le poumon la pneumonie pesteuse typique qui termine fréquemment la maladie.

Diagnostic de la peste :

Sur le malade, le diagnostic bactériologique se pratique en ponctionnant le bubon.

A l'autopsie, on prend de préférence le pus des bubons ou des ganglions lymphatiques pour obtenir d'emblée une culture pure.

L'inoculation des produits suspects se fait surtout à la souris, à la base de la queue : l'animal succombe dans les quarante-huit heures avec une infection généralisée.

X. — *La Morve.*

Le microbe de la morve a été décrit en 1883 par Löffler.

Caractères morphologiques :

C'est un bacille assez court, d'un aspect granuleux, généralement très mince.

Il ne se colore pas par le Gram.

Caractères biologiques :

Croissance abondante sur les milieux habituels.

Sur agar, enduit visqueux blanc.

Sur pomme de terre, enduit brun chocolat typique.

Caractères pathogènes :

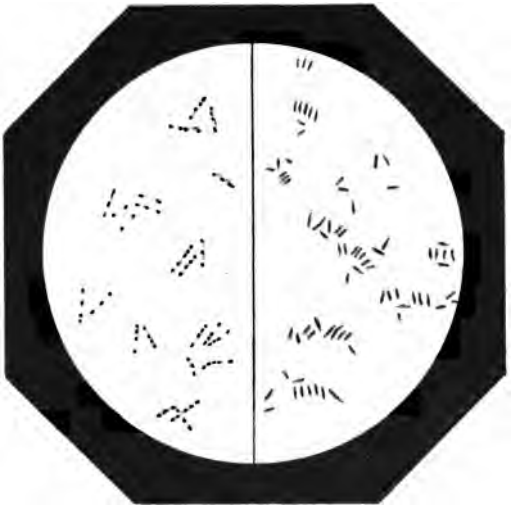
L'inoculation d'un produit suspect contenant de la morve donne, en infection intra-péritonéale, un sarcocèle morveux chez le cobaye mâle.

L'âne succombe très rapidement aux inoculations morveuses (inoculations par scarification sur le front).

Les cultures stérilisées du bacille de la morve dans du bouillon ordinaire fournissent la *malléine* qui est un bon réactif pour déceler la morve latente chez les animaux.

La morve est une maladie fort rare chez l'homme.

BACILLES DE LA DIPHTÉRIE (CULTURE PURE)



BACILLES DE LA DIPHTÉRIE (PÔLES EN BLEU) ET DE LA PSEUDO-DIPHTÉRIE (MÉTHODE DE NEISSER)

CHAPITRE IV

Examen bactériologique des fausses membranes.

I. — *Récolte des exsudats.*

Récolte des exsudats.

Les nombreuses analyses bactériologiques de fausses membranes, pratiquées dans ces dernières années, ont démontré que l'exsudat fibrineux qu'on trouve sur le pharynx ou dans le larynx peut être produit par un certain nombre de microbes différents

Il faut considérer la fausse membrane comme un symptôme : l'examen bactériologique seul permet un diagnostic exact.

Les bactéries qu'on rencontre le plus souvent, associées ou non au bacille de la diphtérie, sont : le bacille pseudo-diphtérique, les staphy-

locoques, les streptocoques, exceptionnellement le pneumocoque et le bacille de Friedländer.

Ces microbes se cultivent facilement et se différencient par les caractères que présentent les colonies sur plaques.

La récolte des exsudats à soumettre à l'analyse se fait très simplement au moyen d'un tampon (ouate hydrophile, fragment d'éponge, etc.) qu'on promène légèrement sur les parties malades au moyen d'une pince flambée.

Nécessité des cultures.

L'examen direct de l'exsudat en préparations colorées ne donne aucune indication précise et doit être rejeté. Il faut absolument recourir aux cultures; dans ce but, le tampon sert à ensemencer la surface d'une plaque de sérum agar (v. plus loin) et cette plaque est déposée à l'étuve pendant douze ou vingt-quatre heures. Quand l'opération est bien faite, il est possible de faire un diagnostic en six ou huit heures, en appuyant directement le deckglass sur le milieu nutritif (préparation par impression), en fixant et en colorant comme d'habitude.

On n'attendra jamais le résultat d'une analyse bactériologique pour pratiquer une injection de sérum antidiphtérique : il faut inoculer le sérum aussitôt que possible.

L'examen bactériologique établit non seulement le diagnostic de la maladie, mais permet

encore de constater la disparition complète des bacilles pendant la convalescence : il faudra toujours pratiquer cet examen avant d'autoriser la rentrée à l'école ou au sein de la famille, d'un malade convalescent de diphtérie.

Il faudra également examiner les sécrétions de la gorge des personnes bien portantes qui peuvent avoir été en contact avec des diphtériques et transportent les germes de la maladie.

II. — *Le Bacille de la diphtérie.*

Le bacille de la diphtérie a été isolé et cultivé pour la première fois en 1884 par Löffler.

Examen direct : Caractères morphologiques.

Bâtonnets immobiles, de dimensions très variables (de 1 à 5 μ de long), présentant une orientation assez typique :

a) Le bacille diphtérique se trouve toujours en amas de dix à vingt éléments, jamais en émulsion homogène dans la préparation ;

b) Dans chacun de ces amas, les bacilles sont groupés soit en palissades et en éléments parallèles, soit en V ou à angle droit ; généralement ils ne se trouvent pas sur le prolongement l'un de l'autre ;

c) Enfin, chaque bacille considéré isolément peut se présenter tantôt en forme de massue,

pointue à une extrémité, renflée à l'autre, tantôt en bâtonnet plus ou moins recourbé et pointu aux deux extrémités.

Le bacille de la diphtérie se colore très facilement par le bleu de méthylène alcalin. (Löffler.)

Il conserve la coloration par le Gram, à condition de ne pas prolonger l'action décolorante de l'alcool absolu.

Caractères biologiques.

Cultures :

A. *En bouillon.* Croissance abondante si le liquide est neutre ou alcalin.

Le bacille diphtérique trouble rarement le bouillon il pousse en formant une pellicule épaisse à la surface du milieu ; cette pellicule est blanche, écailleuse, très friable et tombe au fond du tube.

B. *Sur gélatine.* Croissance faible, le bacille ne se développant bien qu'à 37°.

C *Sur agar.* L'agar ordinaire n'est pas un bon milieu pour la diphtérie ; il faut y ajouter 6 p. c. de glycérine.

D. *Sur sérum.* Le sérum solidifié est très favorable au développement des colonies de diphtérie. Il se prépare en ajoutant à 3 parties de sérum de mouton 1 partie de bouillon peptonisé contenant 1 % de glucose. Ce milieu est coagulé vers 90°. On maintient les tubes, couchés obliquement, dans une étuve spéciale et on pratique

la stérilisation fractionnée, une demi-heure, pendant trois jours consécutifs.

En présence des difficultés de préparation et à cause de l'opacité de ce milieu qui ne permet pas son emploi en plaques de Petri, nous conseillons d'abandonner le sérum de Löffler pour le diagnostic de la diphtérie.

E *Sérumagar de Joos*. C'est le meilleur milieu pour pratiquer rapidement l'analyse bactériologique des fausses membranes. Sérumagar

Pour préparer le sérumagar on prend :

300 gr. de sérum de cheval ;
50 gr. de solution normale de soude ;
150 gr. d'eau.

On chauffe à 80° pendant deux heures, pour favoriser la combinaison du sérum et de la soude. Ensuite on porte à 100° un quart d'heure.

On ajoute 500 gr. de bouillon peptonisé, 20 gr. d'agar. On chauffe, on filtre et on stérilise. Il ne reste plus qu'à répartir en plaques de Petri.

Avantages du sérum agar : Le bacille de la diphtérie pousse aussi abondamment que sur le sérum de Löffler ; le streptocoque ne se développe pas et le staphylocoque pousse mal ; les colonies de diphtérie se reconnaissent donc très

BOSTON MEDICAL
JAN 28 1922
LIBRARY

facilement et il est possible de pratiquer l'examen au bout de six heures de séjour à l'étuve.

Toxine diphtérique : Le bacille de Löffler a la propriété de sécréter une toxine très active dans les milieux de culture. (Roux-Yersin.) Dans l'organisme humain, la résorption de cette toxine est le point de départ des symptômes les plus graves de la maladie, le bacille restant localisé dans les fausses membranes et ne pénétrant que tout à fait exceptionnellement dans les organes.

Les toxines actives sont mortelles pour les cobayes à la dose de quelques milligrammes. — Les animaux succombent avec les symptômes caractéristiques.

Pseudo-diphtérie.

Bacille pseudo-diphtérique: Hoffmann a décrit en 1887 un bacille morphologiquement identique à la diphtérie, mais qui ne présente aucun caractère pathogène ni pour l'homme ni pour les animaux.

Il se présente assez rarement dans les exsudats pseudo-membraneux; il y est quelquefois associé au bacille de Löffler. On a beaucoup exagéré l'importance de ce bacille, dont les caractères principaux sont :

1° Bacille à orientation surtout *parallèle* (en palissades), généralement plus court que le bacille de Löffler (2 à 4 μ de long);

2° Ne donne pas d'acides dans le bouillon (réaction contrôlée au tournesol);

3° Pousse fréquemment en amas muqueux formant un voile à la surface du bouillon ou nageant dans le liquide sans le troubler (aspect de crachat en émulsion). On observe quelquefois une croissance en pellicule ou bien la production d'un trouble abondant dans le bouillon surtout pour la pseudo-diphtérie oculaire);

4° Ce microbe n'est pas pathogène pour les animaux : on peut injecter 4 ou 5 gr. de bouillon sous la peau d'un cobaye, sans observer de symptôme grave; on constate tout au plus un petit œdème local. Le sérum antidiphtérique n'empêche pas la production de cet œdème alors qu'il arrête absolument la croissance du bacille diphtérique;

5° Le bacille de la pseudo-diphtérie ne se colore pas par la méthode de Neisser, tandis que le bacille diphtérique a des pôles colorés en bleu foncé.

Cette méthode nécessite l'emploi d'une culture jeune (de dix-huit heures au maximum) sur sérum solidifié. On colore la préparation par le bleu de méthylène acétique (à froid) :

Solution aqueuse de bleu de méthylène à 1 p. c., 100 gr.
Acide acétique glacial, 5 gr.

On lave à l'eau et on recolore par une solution diluée de vésuvine (à froid également). Si le bacille est coloré en brun pâle avec des granulations bleues, très foncées, on considère ce bacille comme de la diphtérie vraie, tandis que le bacille pseudo-diphtérique est coloré très uniformément en brun sans granulations.

Bacille de Weeks.

On rencontre dans les exsudats de la conjonctivite un bacille décrit par Weeks. Ce sont des bâtonnets très fins, en chaînettes, se décolorant par le Gram.

Ce bacille se cultive sur sérumagar.

On le considère comme l'agent étiologique de la conjonctivite aiguë.

Caractères pathogènes.

Inoculations du bacille de Löffler :

Injecté au cobaye, le bacille de la diphtérie produit des lésions assez typiques : on constate à l'autopsie un œdème local abondant avec exsudat hémorragique. Les capsules surrénales, qui ont normalement un aspect jaune clair et un intérieur brunâtre, sont rouge foncé avec une pulpe hémorragique. Les plèvres et le péricarde contiennent un exsudat séreux plus ou moins abondant.

La virulence des cultures de diphtérie est très variable : on augmente facilement cette propriété par une série de passages en recueillant les bacilles à l'autopsie, dans l'œdème local et

en réinoculant la nouvelle culture, mais à dose moindre, à un cobaye neuf; en partant d'une culture en bouillon tuant un cobaye en quarante-huit heures à la dose de 10 centigr., on arrive facilement après quelques passages à obtenir une culture dont la dose mortelle ne dépasse pas 1 milligramme.

Pathogénie de la diphtérie.

Chez l'homme, le bacille diphtérique produit une infection locale et une intoxication générale. La fausse membrane qu'il produit consiste en un exsudat fibrineux emprisonnant des leucocytes et des bactéries; elle est de consistance variable, tantôt mince et opaline, tantôt épaisse, ferme et blanche. En dessous d'elle, la muqueuse est rouge et saigne facilement. La localisation pharyngée de la fausse membrane constitue plutôt la dipthérie, alors que sa localisation dans le larynx produit le véritable croup.

A côté de cette action locale, le bacille diphtérique peut amener une intoxication générale par diffusion de ses toxines.

On voit certaines diphtéries graves évoluer sans fausse membrane, l'intoxication seule se manifeste alors.

Le bacille se trouve parfois dans la bouche de personnes saines, dans un état de virulence latente. Il possède une grande vitalité et se conserve desséché, pendant plus d'un an, dans les

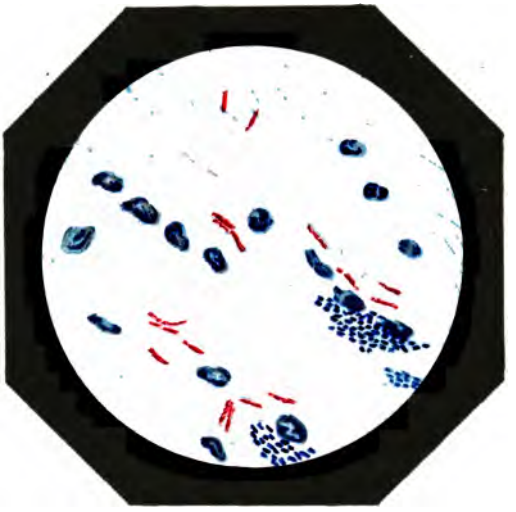
poussières des appartements. Ce bacille n'a *aucun* rapport avec les microbes de la diphtérie aviaire.

Immunité contre la diphtérie : Certains animaux possèdent une immunité naturelle vis-à-vis de la diphtérie et de ses toxines (souris, rats). On ignore les causes de cette immunité.

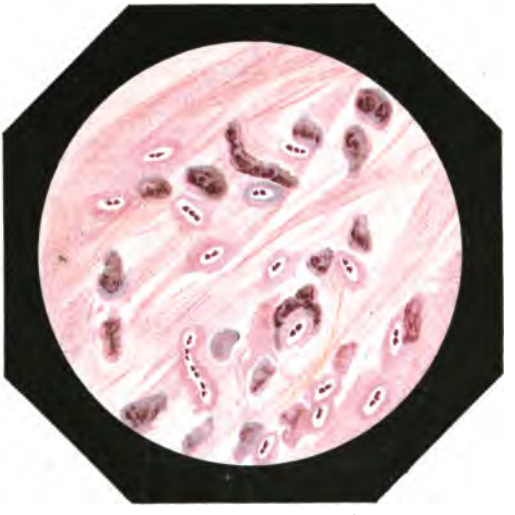
L'immunité active se confère à la chèvre, à la vache et au cheval par l'inoculation sous-cutanée de doses progressivement croissantes de toxine. Après quelques mois, le sang de ces animaux renferme l'antitoxine, le contrepoison spécifique de la maladie. (Voir les détails à la sérothérapie, chap. X.)

Sérothérapie. L'immunité passive est conférée par l'inoculation sous-cutanée d'un sérum antitoxique, c'est-à-dire d'un sérum pris à un animal ayant subi l'immunisation active.

Cette immunité passive peut être employée dans un but préventif (inoculation prophylactique). La préservation se prolonge pendant six semaines et s'établit immédiatement. Le sérum est également employé dans un but thérapeutique et son emploi constitue le traitement spécifique de la diphtérie. (Voir les détails aux résultats pratiques de l'immunité.)



BACILLES DE LA TUBERCULOSE ET DE L'INFLUENZA
(MÉTHODE DE ZIEHL)



PNEUMOCOQUES DANS UN CRACHAT (GRAM)

CHAPITRE V

Examen bactériologique des crachats.

I. — *Récolte et examen des crachats.*

L'examen bactériologique des crachats se pratique le plus généralement par l'analyse microscopique des préparations colorées. Il faut étaler les crachats sur une plaque de verre ou dans une plaque de Petri et les « couper » véritablement entre deux scalpels ou deux aiguilles montées, de façon à obtenir la partie centrale du crachat qui seule doit servir pour l'examen.

On en étale une petite parcelle sur un deck-glass au moyen de l'aiguille de platine (éviter d'écraser le liquide entre deux lamelles comme cela se fait trop souvent), on laisse sécher, on

fixe rapidement à travers la flamme et on colore à chaud. Il faut choisir de préférence l'expectoration du matin (surtout pour la tuberculose au début).

Le bacille de Koch se reconnaît facilement grâce à la méthode d'Ehrlich, modifiée par Ziehl; si les bacilles sont rares, on peut employer une des méthodes de concentration des crachats indiquées plus loin. Pour les affections tuberculeuses débutantes, l'épreuve à la tuberculine, que nous mentionnons plus loin, donne les meilleurs résultats : elle permet de diagnostiquer une tuberculose bien avant que les signes stéthoscopiques aient revélé une altération quelconque du poumon.

Pour la recherche du pneumocoque, la coloration par la méthode de Gram suffit presque toujours. En cas de doute, il faut inoculer une parcelle de crachat, lavée et diluée dans du bouillon, sous la peau d'une souris : l'animal succombe en vingt-quatre heures lorsque l'exsudat contient des pneumocoques; ceux-ci se retrouvent facilement dans le sang du cœur. Le bacille de l'influenza et les streptocoques se reconnaissent facilement à l'examen direct; l'isolement du bacille de Pfeiffer et sa culture pure s'obtiennent par émulsion du crachat dans l'eau stérile et ensemencement sur les milieux spéciaux.

II. — *Le Bacille de la tuberculose.*

Les travaux de Villemin (1868) ont mis en évidence la contagiosité du tubercule, dont l'agent étiologique, le bacille tuberculeux, a été découvert en 1882 par Koch.

Examen direct :

Caractères morphologiques.

Bacille mince, allongé, mesurant 2-4 μ de long sur 0.2 à 0.3 μ de large. Assez polymorphe. Il se retrouve facilement dans les produits suspects, grâce à une méthode spéciale de coloration découverte par Ehrlich ; une fois vivement coloré, il conserve sa coloration et résiste à l'action de décolorants assez énergiques. Le bacille de la lèpre a la même propriété.

La méthode de coloration la plus simple est la méthode d'Ehrlich, modifiée par *Ziehl-Neelsen* :

1° Coloration à chaud par une solution phéniquée de fuchsine (10 gr. de fuchsine en solution alcoolique saturée mélangés à 90 gr. d'acide phénique à 5 p. c.);

2° Décoloration par l'alcool-acide (2 p. c. d'acide nitrique dans l'alcool absolu);

3° Lavage à l'eau;

4° Double coloration au bleu de méthylène en solution aqueuse concentrée;

5° Laver à l'eau et monter au baume après

avoir séché *soigneusement*, en tenant le deck-glass entre les doigts, au-dessus de la flamme de Bunsen.

Dans ces préparations, les bacilles apparaissent en rouge vif sur un fond bleu : le bacille de Koch doit cette propriété de retenir les substances colorantes à une matière grasse qu'on a réussi à extraire des cultures, mais qui a été peu étudiée jusqu'ici.

Notons que ce procédé de coloration est parfait pour la recherche de la tuberculose dans les crachats ; il ne convient pas pour constater la présence du bacille de Koch dans le *lait* ou dans le *beurre*. Les matières alimentaires grasses renferment outre le microbe de la tuberculose des espèces morphologiquement semblables et qui prennent le Ziehl. Il faut les différencier par les cultures et par l'inoculation aux animaux (examiner les tubercules au microscope). Les bacilles pseudo-tuberculeux isolés dans ces matières alimentaires se cultivent facilement sur les milieux ordinaires. Chez le cobaye, ils peuvent produire des tubercules microscopiquement identiques à ceux que donne le bacille spécifique et on devra les étudier attentivement pour les différencier de la tuberculose typique.

Lorsque l'examen microscopique des crachats au point de vue de la recherche de la

tuberculose ne donne pas de résultat positif, on peut concentrer les crachats par l'une des méthodes suivantes :

Concentration des crachats.

Méthode de Biedert : Ajouter aux crachats le double de leur volume de soude caustique à 2 p. c., faire bouillir. Additionner de quatre parties d'eau et faire bouillir jusqu'à ce que la solution soit bien homogène. Laisser déposer pendant quarante-huit heures dans un vase conique.

Il est recommandable d'ajouter une gouttelette d'albumine sur le deckglass pour permettre la fixation du résidu traité par la soude.

Méthode de Spengler. Faire un mélange à parties égales des crachats et d'eau stérile additionnée de quelques gouttes de soude normale. Ajouter 1/2 gr. de pancréatine. Placer à l'étuve pendant une demi-heure; ajouter 1 gr. d'acide phénique. Centrifuger. On examine le résidu.

Pour certains liquides pathologiques renfermant très peu de bacilles tuberculeux (exsudat pleural, urine dans la cystite, etc.) il est toujours préférable de recourir à l'inoculation aux cobayes (v. plus loin).

Caractères biologiques.

Cultures du bacille de Koch.:

On ne parvient pas facilement à isoler ce bacille en culture pure. Le développement des colonies du bacille de la tuberculose nécessitant

un séjour de plusieurs semaines à l'étuve, les contaminations accidentelles se produisent très souvent.

L'isolement du bacille s'obtient le plus rapidement par l'inoculation intrapéritonéale au cobaye et ensemencement des milieux de culture avec des fragments des tubercules militaires recueillis à l'autopsie de l'animal.

Kitasato a préconisé une méthode d'isolement du bacille de Koch dans les crachats, en choisissant une parcelle purulente qui est lavée successivement dans une dizaine d'éprouvettes ou de plaques contenant de l'eau stérile. Cette opération réussit parfois, à condition que les crachats ne renferment pas un trop grand nombre de microbes étrangers.

Méthodes de cultures.

A. *Culture sur sérum solidifié* (Koch). S'obtient assez facilement en additionnant le sérum de 5 à 8 p. c. de glycérine.

Cette méthode a été employée en premier lieu par Koch.

En examinant une colonie du bacille de la tuberculose à 80 diamètres, on constate un aspect spécial « en arabesques », surtout typique dans les préparations colorées faites par impression (*Klatschpräparate*), en déposant un deckglass à la surface du milieu nutritif.

B. *Culture sur agar glycériné.* A 8 p. c.

l'agar glycériné constitue un bon procédé de culture, mais il faut éviter la dessiccation en entourant le tube d'un capuchon de caoutchouc.

La tuberculose pousse sur ce milieu en donnant, après quinze jours de séjour à l'étuve, un enduit épais, plissé, blanc-jaunâtre et chiffonné dans tous les sens.

C. *Culture en bouillon glycériné.* Pour obtenir une bonne culture, on doit s'efforcer de maintenir le fragment qui sert à l'ensemencement, à la surface du liquide. La croissance du bacille en *surface* est alors très abondante et on obtint en quinze jours une pellicule épaisse, jaunâtre, ne se détachant pas en écailles comme la pellicule de la diphtérie, mais tombant au fond du récipient, en bloc. Le liquide reste clair.

On favorise énormément la croissance du bacille de Koch en milieu liquide, en ajoutant 1-2 % de nutrose au bouillon peptonisé ordinaire.

Les toxines.

Tuberculines. Nous ne connaissons pas la toxine tuberculeuse. Koch a extrait des cultures, au moyen de la glycérine, un corps qu'il a appelé « tuberculine » et auquel il a attribué une valeur curative. Il a été reconnu depuis que cette tuberculine primitive a une grande importance pour le diagnostic des tuberculoses,

mais que sa valeur thérapeutique dans la phtisie pulmonaire est discutable.

Ancienne tuberculine.

La préparation de la tuberculine n'offre aucune difficulté ; on prend des cultures de six semaines en bouillon glycériné à 6 p. c., on les chauffe à l'autoclave à 110° et on filtre ; on concentre ensuite le liquide au dixième au bain-marie.

Pour contrôler la valeur du produit obtenu, on se sert généralement de la méthode de Dönitz : On inocule dans le péritoine à une série de vingt cobayes (350-400 gr.) 20 centigr. d'une émulsion bien homogène d'une jeune culture de tuberculose ayant séjourné de neuf à onze jours à l'étuve. Vers la troisième semaine, on pratique l'inoculation d'épreuve et on évalue la dose minima de tuberculine capable de tuer le cobaye en vingt-quatre heures. Cette dose est généralement de 25 centigr.

Tuberculine T. R.

Koch a préparé une nouvelle tuberculine et a remplacé l'extrait glycériné par la trituration complète des bacilles desséchés dans un mortier d'agate. On émulsionne dans l'eau distillée. L'émulsion est centrifugée et le liquide clair qui surnage représente la tuberculine TO. Le fond du tube est repris par l'eau, centrifugé plusieurs fois et le liquide surnageant représente la tuberculine TR. — L'action immunisante de

cette préparation a été affirmée par Koch; son action thérapeutique ne semble pas supérieure à celle de la tuberculine primitive.

1° Utilisation de la tuberculine pour le diagnostic de la tuberculose des bovidés : On dilue la tuberculine au dixième dans une solution d'acide phénique à 5 p. c. (Cette solution ne se conserve pas!) On injecte 3 à 4 c. c. du produit à une vache, vers le soir; le lendemain, on prend la température de l'animal toutes les deux heures. Si on constate une réaction fébrile dépassant de 1°,4 la température normale, l'animal doit être considéré comme malade;

La tuberculine chez l'homme.

2° Pour le diagnostic précoce de la tuberculose humaine, l'inoculation doit se faire avec une extrême prudence. D'après Koch, on doit prendre la température toutes les deux heures, pendant les deux jours qui précèdent l'injection, pour avoir une moyenne normale, variant d'un individu à l'autre. On injecte 1 milligr.; deux jours après 5 milligr., et après quarante-huit heures, encore 10 milligr. Si une réaction fébrile suit l'une des deux premières injections, on répète celles-ci avant d'augmenter la dose. Chez les enfants en dessous de dix ans, il faut commencer par 1/2 milligr.; on passe alors à 1 milligr. puis à 5.

Les injections se pratiquent généralement le

soir, entre 6 et 8 heures ; la réaction, lorsqu'elle se produit, se constate le mieux vers la douzième heure qui suit l'injection. On considère comme réaction une augmentation de température de 0.5°. En cas de réaction on répète la même injection, car celle-ci est généralement plus accentuée la seconde fois. Il ne faut jamais inoculer de malades ayant une température dépassant 38°. Les injections se pratiquent dans le dos et la tuberculine doit être diluée chaque fois dans 1/2 p. c. d'acide phénique. Chez les malades nerveux et facilement suggestionnables, il est bon d'injecter avant ou après de l'eau stérile pour contrôler la réaction.

L'injection de tuberculine est également un très bon moyen pour s'assurer de la guérison anatomo-pathologique d'un malade.

Caractères pathogènes :

A. Chez les animaux, l'inoculation expérimentale de produits tuberculeux donne presque toujours la maladie. Le cobaye succombe à la suite de l'inoculation sous-cutanée vers le vingtième jour ; l'injection dans la chambre antérieure de l'œil donne une tuberculose de l'iris vers le quinzième jour, affection rapidement suivie d'une infection généralisée.

On constate parfois, chez les cobayes, une affection spontanée simulant la tuberculose et

généralement produite par un bacille ovoïde, mobile, donnant une culture déjà au bout de vingt-quatre heures. Les tubercules du foie et de la rate sont plus grands microscopiquement que dans la tuberculose véritable.

On connaît plusieurs autres bactéries produisant de véritables pseudo-tuberculoses (pseudo-tuberculose zoogléique). Ces bacilles ont des analogies avec le bacille de la morve.

D'après quelques travaux, il est possible que le bacille de la tuberculose n'appartienne pas aux schizomycètes ou bactéries, mais au groupe du streptothrix (morve, actinomycose). La forme bacillaire ne serait qu'une forme intermédiaire du développement cyclique d'une moisissure.

On considère généralement le tubercule comme une réunion de leucocytes affluant vers les endroits où se trouvent les bacilles de Koch pour les englober.

Ces phagocytes se transforment, d'après Metchnikoff, en cellules épithélioïdes ou en cellules géantes, le tubercule étant composé d'une cellule géante centrale, avec quelques bacilles tuberculeux et de cellules épithélioïdes entourées de cellules lymphoïdes ou globules blancs.

Le rôle des cellules fixes du tissu dans la genèse du tubercule est encore obscur. Les

tubercules miliaires constituent l'élément caractéristique de la tuberculose généralisée expérimentale qu'on a le plus l'occasion d'étudier dans les laboratoires.

B. Chez l'homme, le bacille de la tuberculose se localise principalement dans le poumon.

Cette maladie est extrêmement répandue dans notre pays, où la tuberculose pulmonaire fait chaque année plus de seize mille victimes.

La contagion peut s'effectuer par les voies digestives, mais se fait généralement par aspiration de poussières infectieuses (rôle important de la dessiccation des crachats). Il faut noter que l'air expiré par les malades ne renferme pas de microbes pathogènes.

L'association du bacille de Koch avec d'autres bactéries, les streptocoques ou le bacille de l'influenza, présente une grande importance clinique et aggrave le pronostic de la maladie.

Tuberculose humaine et tuberculose bovine. On sait depuis longtemps que la transmission de la tuberculose humaine à l'espèce bovine est très difficile à réaliser. Koch a repris ces expériences et a déclaré au congrès de la tuberculose tenu à Londres, que la réciproque est vraie et que la tuberculose bovine ne se transmet à l'homme qu'exceptionnellement. Cette question

a passionné le monde médical et les travanx expérimentaux publiés depuis lors sont déjà fort nombreux.

Les animaux sont loin d'avoir tous la même réceptivité pour le bacille de la tuberculose. Il est probable qu'il n'y a au fond de cette question qu'un fait d'adaptation au milieu.

On se rappelle les discussions qui ont eu lieu au sujet de la tuberculose aviaire. Nous savons maintenant que lorsqu'on cultive le bacille tuberculeux des mammifères dans des sacs de collodion déposés dans le péritoine des oiseaux, ces microbes ne tardent pas à s'adapter à l'organisme nouveau et deviennent parfaitement pathogènes pour les oiseaux. Il n'y a donc là en somme que des variations de virulence et il est probable que les expériences sur la tuberculose des bovidés aboutiront à la même conclusion, c'est-à-dire que le bacille humain adapté au bœuf devient pathogène pour cet animal et réciproquement.

Dans la pratique, la contamination humaine par le bacille des bovidés est exceptionnelle. La véritable prophylaxie de la tuberculose consiste à empêcher les malades de semer leurs bacilles.

Les expériences sur l'immunité contre la tuberculose ont donné des résultats fort peu encourageants. On a pu se demander encore

Immunité.

récemment si l'immunité contre la tuberculose existe réellement. Koch a démontré que l'infection tuberculeuse qu'on greffe sur une tuberculose déjà en évolution est beaucoup moins grave pour l'animal qui a subi une première atteinte de la maladie. On pourrait expliquer de même, par un certain degré d'immunité acquise, les faits nombreux de guérisons spontanées dans beaucoup de tuberculoses humaines.

Malheureusement, l'immunisation des animaux de laboratoire contre ce bacille est une opération des plus difficiles : Richet et Héricourt ont prétendu, il y a quelques années, avoir conféré l'immunité à des chiens. Mais ces expériences n'ont pas été confirmées aillleurs.

Behring est parvenu à vacciner le bœuf contre la tuberculose expérimentale au moyen d'un virus atténué (immunité idiopathique).

Sérothérapie.

Les travaux sur l'immunité contre la tuberculose ont eu généralement pour but la préparation d'un sérum actif applicable au traitement de la tuberculose humaine.

Depuis 1896, Maragliano s'est efforcé d'immuniser des chevaux par un mélange de tuberculine concentrée à 100° et de cultures tuberculeuses filtrées sur bougie (proportions de 3 parties de tuberculine pour 1 partie de toxalbumine).

Cet auteur a prétendu, il y a quelques années, avoir obtenu un sérum qui protège les cobayes intoxiqués avec des doses mortelles de tuberculine. Son sérum exercerait une action préventive, injecté six heures avant l'intoxication; une dose plus forte permettrait à un cobaye tuberculeux de supporter sans accident l'inoculation d'une dose mortelle de tuberculine. Ce sérum est inoffensif pour l'homme et les animaux.

La valeur thérapeutique du sérum antituberculeux dans la tuberculose pulmonaire est nulle. Il faut espérer qu'on arrivera un jour à faire bénéficier les malades des conquêtes de la sérothérapie, mais on n'obtiendra ce résultat qu'en s'appuyant rigoureusement sur l'expérimentation.

L'immunisation contre la tuberculose est possible. On se trouve en réalité en présence de difficultés techniques, résultant en grande partie du manque de résistance des animaux auxquels on inocule les produits tuberculeux et de nos connaissances limitées sur la véritable toxine tuberculeuse.

III. — *Le Pneumocoque.*

Le diplocoque de la pneumonie ou pneumocoque a été décrit en 1884 par A. Fränkel qui, a établi la pathogénie de cette maladie.

Examen direct.

1° *Caractères morphologiques* :

Microcoques de forme variable, généralement allongés, pointus à une extrémité, arrondis de l'autre et se présentant par couples de deux éléments réunis par leur grosse extrémité. Ils ont une forme en fer de lance (lanceolatus).

Le pneumocoque est généralement entouré d'une capsule transparente.

Il se colore par la méthode de Gram : cette méthode convient le mieux pour la recherche du pneumocoque dans les crachats ; on colore le fond à l'éosine et les pneumocoques apparaissent en violet foncé sur un fond rose ; la capsule reste transparente.

Pour contrôler l'examen microscopique, on peut se servir de l'inoculation aux souris : une parcelle de crachat, émulsionnée dans l'eau stérile fait succomber l'animal en vingt-quatre à quarante-huit heures : à l'autopsie, on retrouve le pneumocoque entouré de sa capsule, dans le sang du cœur.

Cultures.

2° *Caractères biologiques* :

Le diplocoque de Fränkel se cultive assez facilement sur les milieux ordinaires, mais il perd sa capsule qui ne réapparaît que dans le corps de l'animal.

a) Culture en bouillon trouble léger et très uniforme, sans dépôt. On peut centrifuger le liquide, les bactéries restent néanmoins en émulsion sans se déposer.

Il est avantageux d'ajouter un peu de glucose au bouillon, qui doit être franchement alcalin. Pour neutraliser les acides au fur et à mesure de leur production, on peut mettre de la craie au fond du tube;

b) La gélatine n'est pas liquifiée, mais la croissance reste médiocre:

c) L'agar glucosé (3 °/o) ou glycériné (5 °/o) convient bien au développement des colonies qui sont petites, transparantes et claires comme de l'eau.

La virulence des cultures varie beaucoup et pour conserver à une espèce ses caractères pathogènes, on est obligé de recourir à de fréquents passages dans l'organisme du lapin.

La toxine du pneumocoque n'est pas connue. Les bouillons filtrés sur bougie ne sont pas toxiques; le poison est donc intra-cellulaire comme pour le choléra ou la fièvre typhoïde : les corps microbiens seuls sont toxiques.

3° *Caractères pathogènes* : Inoculations.

Le pneumocoque est très pathogène pour la souris et pour le lapin.

L'inoculation sous-cutanée d'une ou de deux

gouttes de culture en bouillon de vingt-quatre heures fait succomber une souris très rapidement : dans le sang de tous les organes, et spécialement dans le cœur, on retrouve très facilement le pneumocoque entouré de sa capsule (qui avait disparu dans la culture).

Les cobayes résistent mieux.

Le pneumocoque est l'agent étiologique de la pneumonie franche, mais il se retrouve encore dans bon nombre d'autres affections, notamment dans les broncho-pneumonies et les bronchites capillaires, les méningites (13 % des cas), les conjonctivites, certaines arthrites, etc. Chez les enfants il produit assez fréquemment des otites. On l'a rencontré assez fréquemment dans la bouche de personnes saines, vivant à l'état de saprophyte.

Immunité. L'immunité antipneumococcique a été bien étudiée au point de vue expérimental. L'immunité active est conférée par l'inoculation de cultures vivantes ou mieux de cultures tuées par le chloroforme ou la chaleur. Cette immunité aboutit à la formation d'anticorps spécifiques qui se trouvent répandus en grande quantité dans le sérum des animaux immunisés. Le sérum possède un pouvoir préventif très énergique et protège contre l'infection. L'action du sérum s'exerce non seulement pour prévenir

la maladie, mais encore pour guérir une infection débutante.

L'action antitoxique du sérum n'a pas été mise en évidence jusqu'ici. L'application de ce remède aux affections pneumococciques chez l'homme est encore prématurée et n'a donné aucun résultat.

IV. — *Le Pneumobacille de Friedlander.*

Le pneumobacille, décrit en 1882 par Friedlander, a été confondu primitivement avec le pneumocoque; on lui a attribué une importance trop grande.

C'est un bacille encapsulé, ne se colorant pas par la méthode de Gram.

Il perd sa capsule dans les milieux de culture. Il pousse abondamment en bouillon peptonisé, en produisant un voile visqueux. Il fait fermenter les sucres et ne coagule pas le lait.

Le pneumobacille liquifie très légèrement la gélatine et produit, en piqûre dans ce milieu, une strie en forme de clou.

On le rencontre dans certaines lésions pulmonaires et dans quelques affections pseudo-membraneuses simulant la diphtérie. Il est très répandu dans l'air et vit sur les muqueuses à l'état de saprophyte (bouche, gorge, etc.)

Le pneumobacille aurait, dit-on, des rapports biologiques très étroits avec le bacille de l'ozène et le bacille du rhinosclérome.

V. — *Le Bacille de l'influenza.*

Ce bacille a été décrit pour la première fois par R. Pfeiffer en 1890.

Examen direct.

1° *Caractères morphologiques* :

Très petits bacilles mesurant de 0.2 à 0.3 μ de large sur 0.4 à 0.6 μ de long.

Immobiles et toujours réunis en grands amas dans les crachats. Ces amas prennent souvent la forme de traînées plus ou moins longues dans lesquelles les microbes sont généralement orientés en strepto-bacilles.

On les colore facilement par la fuchsine diluée.

Ces bacilles ne prennent pas le Gram.

Cultures.

2° *Caractères biologiques* :

Le bacille de l'influenza ne se cultive pas sur les milieux ordinaires. Il ne se développe que dans les milieux à base d'hémoglobine.

a) Hémoglobine de pigeon. On étale à la surface d'un tube d'agar peptonisé une petite quantité de sang de pigeon fraîchement recueilli: à cet effet, un aide étale l'aile d'un pigeon vivant sur une table, on enlève quelques plumes

à la racine de l'aile, on désinfecte à l'alcool et à l'éther et, après avoir sectionné une des veines qui apparaissent à cet endroit, on recueille le sang qui s'écoule dans un tube à réactif stérile. On ensemence l'agar aussitôt, avant la coagulation. Les tubes préparés de cette façon se conservent assez longtemps. Les colonies sur sang de pigeon *(Blut-agar)* sont très petites, absolument hyalines et transparentes, de la dimension d'une tête d'épingle ;

b) L'influenza se développe également sur agar préparé avec du sang humain ou avec du sang de lapin ;

c) Milieu à l'hémoglobine : On prend un mélange de 1.1 p. c. d'hémoglobine et de 21.5 p. c. d'extrait de malt qu'on additionne à parties égales d'agar ordinaire maintenu à 50 degrés ; ce milieu donne les mêmes résultats que le blutagar de Pfeiffer (Giœlli) ;

d) Milieu à l'albumine : On additionne d'agar, une émulsion de jaune d'œuf dans du chlorure de sodium à 10 p. c.

e) Milieu liquide : On obtient de bonnes cultures en additionnant le bouillon peptonisé de 1 p. c. de sang de pigeon et en faisant congeler pour dissoudre l'hémoglobine.

3° *Caractères pathogènes* :

Les animaux sont réfractaires à l'inoculation

du bacille de Pfeiffer : le lapin ne succombe qu'à des injections de doses massives de cultures.

Chez l'homme, outre la grippe et ses diverses localisations, le bacille de l'influenza peut produire des pneumonies caractéristiques.

Dans la pratique on abuse fréquemment du diagnostic influenza ; il est regrettable qu'on ne fasse pas plus souvent l'examen des crachats pour contrôler le diagnostic clinique, puisque la recherche du bacille de Pfeiffer est extrêmement facile. On doit contrôler l'examen microscopique direct, par les cultures sur blutagar qui s'obtiennent aussi très aisément.

VIBRIONS DU CHOLÉRA DANS LES DÉJECTIONS

BACILLES DE LA FIÈVRE TYPHOIDE (COLORATION DES CILS)

CHAPITRE VI

Examen bactériologique des déjections.

I. — *Analyse des selles en général.*

La technique de l'examen des déjections n'offre aucune difficulté particulière. Règle générale, il faudra soumettre à l'analyse bactériologique tous les cas de diarrhée choléri forme : à cet effet, on recueille quelques centimètres cubes de matière suspecte dans un flacon quelconque bien bouché.

L'examen direct permettra de constater la présence du bacille spécifique du choléra ; on complétera ce diagnostic par les cultures en isolant le bacille dans l'eau peptonisée et en pratiquant les réactions indiquées plus loin : il faut noter cependant que le vibrion du choléra

est le seul vibrion qu'on rencontre dans l'intestin humain et que la présence d'un bacille courbe dans les déjections indique déjà la probabilité d'un cas de choléra. Les eaux alimentaires au contraire renferment un grand nombre de vibrions non spécifiques et rendent nécessaires des analyses répétées et des examens approfondis pour la recherche de ce microbe.

On rencontre encore dans les matières fécales, des streptocoques dont la présence est facile à démontrer.

Le bacille typhique se retrouve rarement dans les déjections; malgré le grand nombre de méthodes proposées pour son isolement dans les matières fécales, la constatation de sa présence reste une opération fort difficile.

Tout au plus pourrait-on tenter l'isolement du bacille d'Eberth dans les déjections au moyen de la méthode Drigalski-Conradi que nous étudierons au chapitre de la fièvre typhoïde.

La présence du bacille de la diarrhée verte se démontre très facilement comme nous le verrons plus loin.

II. — *Le Vibrion du choléra.*

Le vibrion du choléra a été isolé et cultivé pour la première fois en 1883 par R. Koch.

1° *Caractères morphologiques* :

Le vibrion cholérique, appelé encore bacille virgule à cause de sa forme recourbée, n'est pas un bacille à proprement parler, mais un spirille, microorganisme très allongé, dix ou vingt fois plus long que les bactéries que nous avons étudiées jusqu'ici. Les vibrions du choléra se présentent le plus souvent sous forme de fragment de spirilles, en bâtonnets recourbés, mesurant 2 à 3 μ de long sur 0.5 μ de large. La courbure varie beaucoup et peut être fort peu prononcée. Ils présentent des formes d'involution très nombreuses.

Ces bactéries sont mobiles et possèdent un cil terminal.

Le bacille du choléra se colore facilement par les méthodes ordinaires, notamment par la fuchsine diluée. Il ne reste pas coloré par la méthode de Gram.

2° *Caractères biologiques* : Cultures.

Le bacille virgule pousse facilement sur les milieux ordinaires : il est très aérobie.

A. Dans le bouillon, il se développe en troublant fortement le liquide.

B. Sur la gélatine, il donne en vingt-quatre heures des colonies petites, blanchâtres et transparentes (caractère important). A un faible grossissement, ces colonies sont granuleuses. Dès le

troisième jour, la liquéfaction de la gélatine commence et il reste une espèce de petit noyau nageant dans la gélatine liquéfiée

En piqûre dans la gélatine, le choléra liquéfie lentement le milieu en formant une dépression centrale en forme de tête de clou. La liquéfaction n'atteint les parois du tube que vers le sixième ou septième jour.

C. Sur agar, la croissance est facile et rapide. Il se forme un enduit blanchâtre, humide, plus ou moins abondant.

Indol. *Réaction de l'indol* (cholera-roth) : La réaction de l'indol se démontre facilement dans les cultures en bouillon, en y ajoutant quelques gouttes d'acide sulfurique.

Le bacille du choléra ayant un pouvoir réducteur énergique, transforme les matières albuminoïdes en un composé aromatique : l'indol ; les nitrates du bouillon ayant été réduits en nitrites, l'acide sulfurique qu'on ajoute pour la réaction met l'acide azoteux en liberté et il se produit dans le liquide une coloration rose indiquant la présence de nitroso-indol. Cette teinte rosée s'obtient surtout en milieu peptonisé (bouillon ordinaire, eau de peptone). Elle se produit presque instantanément : la coloration, rose au début, fonce vers le violet au bout d'une heure et passe au brun foncé après vingt-quatre heures.

La *toxine* sécrétée par le vibrion de Koch est peu connue : elle produit cependant la plupart des symptômes du choléra asiatique, qui sont, en réalité, des symptômes d'intoxication. On pense généralement que la toxine est intra-cellulaire, contenue dans le corps même du vibrion et mise en liberté lors de sa destruction (Pfeiffer). Cultivé en sacs de collodion dans le péritoine des cobayes, le vibrion peut sécréter une toxine amenant des symptômes assez graves d'intoxication. (Metchnikoff.) Toxine.

Caractères pathogènes :

Chez les animaux, le bacille du choléra produit des intoxications rapidement mortelles. Koch a réalisé chez le cobaye l'infection intra-intestinale en introduisant une culture de choléra dans l'estomac au moyen d'une sonde, après avoir neutralisé le suc gastrique par du carbonate du soude. Dans cette expérience il est utile d'immobiliser en même temps les intestins par une injection de 1 c. c. de teinture d'opium faite directement dans le péritoine. Inoculation du choléra.

L'infection intra-intestinale expérimentale s'obtient le mieux chez les très jeunes lapins : on évite de cette façon la pullulation des bactéries secondaires qui sont rares chez ces petits animaux. A l'autopsie, on constate une hyperémie de l'intestin et la teinte hortensia, typique au choléra.

L'injection intra-péritonéale produit rapidement la mort : les symptômes sont ceux de la péritonite infectieuse ; la mort survient dans l'hypothermie ; les bacilles ne pullulent généralement pas dans les organes

Immunité anticholérique.

L'immunité contre le choléra a été bien étudiée au point de vue expérimental. C'est à la suite de recherches sur le vibrion de Koch que le problème de l'immunité est entré dans une phase véritablement pratique. Les animaux de laboratoire peuvent être immunisés par l'inoculation de doses progressivement croissantes de cultures vivantes ou de cultures tuées par le chloroforme ou la chaleur. L'immunité obtenue est une immunité bactéricide, non antitoxique. Les anticorps spécifiques sont répandus dans le sang des animaux immunisés.

Vaccinations préventives.

Les microbes vivants du choléra peuvent être inoculés sans danger à l'homme, sous la peau. Il s'ensuit une réaction locale et un état d'immunité active assez persistant. On a utilisé cette immunisation en temps d'épidémie pour prévenir la maladie. (Voir les détails aux résultats pratiques de l'immunité.)

4° *Recherche du choléra* :

A. *Dans les selles*, nous avons vu que la présence seule du bacille virgule implique déjà l'existence probable du choléra indien typique.

Il suffit de faire une préparation colorée à la fuchsine pour observer la présence des vibrions. On a isolé différentes variétés selon les épidémies où les bacilles ont été recueillis (bacille de Massaouah, bacille de Hambourg, bacille de Courbevoie), mais les différences observées tiennent à de légères modifications biologiques dans la vitalité des cultures.

Le bacille de *Finkler et Prior* n'a aucune signification spéciale : ce vibrion n'a été trouvé en réalité qu'une fois, en 1884, dans des cas douteux de choléra nostras et se rapproche par la plupart de ses réactions du choléra asiatique. On a beaucoup exagéré son importance.

En piqûre dans la gélatine, il donne un entonnoir plus large, c'est-à-dire une liquéfaction plus rapide que le bacille virgule. C'est un caractère différentiel absolument insuffisant pour en faire une espèce différente, même une variété.

Si l'on rencontre dans les selles un vibrion bien caractérisé, on peut, règle générale, le considérer comme du choléra vrai : il faudra chercher à compléter le diagnostic par la réaction de l'indol, la culture en plaques de gélatine et l'inoculation aux animaux. Diagnostic du choléra.

B. *Dans les eaux*, la recherche du choléra constitue une opération des plus délicates. On a isolé dans les eaux un nombre énorme de

vibrions, présentant l'aspect morphologique du choléra, mais en différant par les caractères biologiques et les caractères pathogènes.

Pour isoler le bacille du choléra dans une eau suspecte, Koch a recommandé la méthode de culture en milieu peptonisé.

A cet effet, on prend 90 gr. de l'eau à analyser et 10 gr. de peptone en solution à 10 p. c.

Ce mélange contient donc 1 p. c. de peptone. On distribue en matras de 20 ou 30 gr. et on dépose à l'étuve. Les vibrions du choléra, très aérobies, viennent pulluler à la surface du liquide en formant une mince pellicule au bout de huit à dix heures. On peut dès lors facilement isoler le bacille spécifique en recueillant un fragment de pellicule au moyen d'une anse de platine et en ensemençant le mélange suspect sur plaques d'agar et en tube de gélatine dont on versera le contenu dans des plaques. Quand le vibrion est obtenu en culture pure, on fait la réaction de l'indol et on pratique l'inoculation aux cobayes.

III. — *Le Bacille de la diarrhée verte.*

On est souvent amené à pratiquer l'examen bactériologique des selles dans la diarrhée verte des enfants afin d'établir le diagnostic entre la

diarrhée verte bacillaire et la simple diarrhée bilieuse.

Le bacille de la diarrhée verte (Lesage) est un bâtonnet peu mobile mesurant de 2 à 4 μ de long sur 1,2 μ de large, se décolorant par le Gram. Il trouble le bouillon peptonisé en donnant un sédiment verdâtre.

Ce bacille ne liquéfie pas la gélatine et pousse abondamment sur agar. Il donne de petites colonies transparentes et verdâtres.

Il résiste bien à la dessiccation et on pense qu'il peut se transmettre par l'air.

Ses caractères pathogènes ont été peu étudiés jusqu'ici; chez les enfants du premier âge, il produit les diarrhées vertes infectieuses qu'il importe de ne pas confondre avec les diarrhées vertes bilieuses, dans lesquelles le pigment biliaire est d'ailleurs facilement décelable par les réactifs ordinaires.

IV. — *Le Bacille de la dysenterie.*

Découvert en 1897, par Shiga (Japon), décrit en 1900, par Kruse.

Caractères morphologiques :

Petit bacille à extrémités arrondies, peu mobile, ressemblant par certains caractères au bacterium coli.

Se colore par les méthodes ordinaires, ne prend pas le Gram.

Caractères biologiques :

Bouillon : Trouble abondant, avec dépôt. Pas de pellicule, pas d'indol.

Gélatine : Petites colonies à bords irréguliers, pas de liquéfaction.

Agar : Petites colonies grisâtres à développement plus lent que le bacterium coli.

Ne fait pas fermenter l'agar sucré.

Lait : N'est pas coagulé.

Caractères pathogènes :

Ce bacille est très pathogène pour le cobaye. Il se retrouve d'une façon constante dans les selles des malades à partir du quatrième ou cinquième jour de la maladie.

Pour le diagnostic bactériologique de la dysenterie, on peut se baser sur les trois caractères suivants :

1° Mesurer le pouvoir agglutinant du sérum des malades vis-à-vis du bacille spécifique;

2° Le cultiver dans du lait, qu'il ne doit pas coaguler;

3° L'ensemencer sur agar sucré qu'il ne fait pas fermenter.

CHAPITRE VII

Examen bactériologique des eaux.

I. — *Les Analyses d'eau en général.*

La pluie qui tombe à la surface du globe — et spécialement dans notre pays — se divise en trois parties distinctes : la première s'évapore assez rapidement (une bonne moitié de l'eau tombée), la seconde participe à la formation des cours d'eau et la troisième pénètre dans le sol jusqu'à ce qu'elle rencontre un terrain imperméable qui pourra l'arrêter : elle forme à sa surface la nappe souterraine, origine de toutes les sources.

La pureté des sources dépendra donc de la qualité géologique des stratifications que l'eau

aura dû traverser avant de former la nappe souterraine.

Les manipulations qui précèdent l'analyse de l'eau ne sont pas sans importance : nous étudierons successivement la récolte des eaux, leur transport et les différents procédés d'analyse bactériologique.

1° *Récolte des eaux.* Il est recommandable de recueillir l'eau qui doit être soumise à l'analyse dans des flacons stérilisés d'une contenance d'un litre environ et bouchés à l'émeri. On peut au besoin prendre des bouteilles à vin qu'on fait bouillir remplies d'eau dans une grande marmite ainsi que le bouchon. On vide la bouteille pendant que celle-ci est encore chaude et on la bouche soigneusement : on obtient ainsi un flacon pratiquement stérile.

S'il s'agit d'analyser une eau de distribution, recueillie à un robinet, il faudra laisser couler l'eau pendant cinq à dix minutes avant de remplir le flacon.

S'il s'agit d'un réservoir ou d'une large conduite, on plongera le flacon dans l'eau et on l'ouvrira sous l'eau. On opérera de même pour l'eau des citernes.

Si l'on est obligé de prendre l'eau, qui doit servir à l'analyse, à une pompe, il faudra pomper pendant quelques minutes afin d'éviter de

prendre l'eau qui a pu séjourner dans les tuyaux.

Enfin, pour les eaux de puits, spécialement les eaux récoltées à la campagne, il suffira de plonger un seau bien propre dans ce puits et de recueillir l'eau en ouvrant le flacon dans le seau.

2° *Transport des eaux*. L'ensemencement de l'eau suspecte dans les milieux de culture peut difficilement se faire sur place. Il faudra donc transporter l'échantillon recueilli aussitôt que possible au laboratoire d'analyse. On pourra utiliser des caisses spécialement construites dans ce but, renfermant une couche de glace qui permet de maintenir l'eau aux environs de 0°. L'isolement est obtenu par une couche extérieure de son ou de fibre de bois. Ces conditions sont absolument nécessaires pour pouvoir faire une analyse quantitative exacte. Même au point de vue de la recherche des microbes pathogènes, il est important d'empêcher la pullulation des bactéries secondaires qui, par leur nombre, peuvent venir masquer la présence de microbes plus rares, qui se développent moins rapidement.

3° *Analyse quantitative* :

Un examen direct de l'eau à analyser permet déjà de se rendre compte du nombre approxi-

Analyse quantitative des eaux.

matif des bactéries et de la nécessité d'une dilution plus ou moins forte pour les cultures.

On doit ensemencer l'eau dans les tubes de gélatine maintenus à 37° et dont on fait des plaques de Petri qui sont maintenues pendant 48 heures à 20°. On s'arrange de façon à ce que chaque plaque renferme 1 c. c., 1/2 c. c. et 1/4 c. c. d'eau pure. Si l'eau renferme beaucoup de bactéries, il faut diluer au dixième, au centième et au millième.

La numération se pratique en déposant la plaque sur un morceau de papier où l'on a tracé un cercle des dimensions de la plaque avec dix secteurs. Il suffit de numérer les colonies dans un secteur et de multiplier par dix.

Cette méthode est préférable au simple quadrillage généralement employé, car la répartition de la gélatine dans la plaque est très irrégulière; il y a plus de colonies à la circonférence qu'au centre de la plaque, à cause de l'amincissement central de la couche de gélatine; il est rare, en effet, que les boîtes de verre utilisées comme plaques soient régulièrement aplaties; leur partie centrale est généralement surélevée.

Pour l'analyse quantitative, on peut aussi ensemencer des plaques d'agar en même temps que les plaques de gélatine : à cet effet, on laisse

tomber à la surface du milieu une goutte de l'eau à analyser, et on l'étale au moyen du fil de platine. On dépose à l'étuve et on numère après vingt-quatre heures.

Règle générale, la gélatine donne de meilleurs résultats que l'agar.

Il est possible de combiner les deux méthodes en ajoutant 1/2 p c. d'agar à de la gélatine ordinaire. De cette façon les plaques peuvent être déposées à 30° et le développement des bactéries est aussi abondant que sur gélatine simple.

Il faut noter en passant que l'analyse quantitative n'a plus grande importance aujourd'hui : la recherche des microbes pathogènes, spécialement du typhus et du coli, est une opération autrement sérieuse pour apprécier la valeur hygiénique d'une eau alimentaire

Analyse qualitative des eaux.

A un point de vue général, remarquons qu'*une* analyse bactériologique ne suffit pas pour apprécier la qualité d'une eau de distribution. *Un* examen permettra évidemment de contrôler la filtration ou même les résultats de la désinfection d'une eau. Mais pour émettre un avis motivé sur une eau de distribution, on ne doit pas perdre de vue que l'origine de l'eau (captation des sources, terrains géologiques qu'elles traversent, etc.), le mode de canalisation, les détails de la distribution sont autant de pro-

blèmes hygiéniques de la plus haute importance qui nécessiteront des recherches longues et minutieuses et qu'on ne pourra pas remplacer par des examens chimiques ou bactériologiques, même pratiqués régulièrement. Aucun bactériologiste ne devrait même consentir à pratiquer l'analyse d'une eau qui n'aurait pas été recueillie aseptiquement par *lui-même* ou par une personne expérimentée.

Il serait souhaitable qu'on s'entende dans les laboratoires pour l'unification des méthodes d'analyses des eaux, spécialement sur la technique à employer pour la recherche des espèces pathogènes qui constitue une opération bactériologique délicate et controversée.

Recherche des bactéries pathogènes :

a) Le vibrion du choléra doit être recherché d'après la méthode que nous avons étudiée plus haut (voir choléra);

b) Le bacille typhique et le bacterium coli nécessitent l'emploi d'une technique tout à fait spéciale et assez compliquée.

On a préconisé un grand nombre de méthodes : à notre avis, la meilleure est certainement la méthode de Péré.

Méthode de Péré. On mélange : 150 gr. de bouillon; 830 gr. d'eau à analyser et 20 gr. acide phénique à 5 p. c.

Après agitation on distribue dans dix matras stériles de 100 gr. et on dépose à l'étuve.

Après vingt-quatre heures, on note les matras qui se sont troublés et on ensemence sur plaque d'agar une goutte des flacons suspects On peut également repiquer une anse du liquide dans des tubes de bouillon phéniqué à 1 p. c. qui séjournent à l'étuve pendant six heures.

Diagnostic du bacille typhique.

Les bactéries suspectes qui se développent sont examinées plus en détail. Leur détermination nécessite l'emploi successif des huit méthodes de différenciation résumées plus loin.

En règle générale, on pourra considérer comme bacille typhique tout bacille ne prenant pas le Gram, ne liquéfiant pas la gélatine, possédant dix à douze cils, ne coagulant pas le lait, ne faisant pas fermenter les sucres, ne donnant pas d'indol, produisant un enduit blanc nacré sur pomme de terre, ne poussant pas dans l'asparagine, poussant dans la peptone-mannite avec coloration rouge et agglutiné par de petites quantités de sérum spécifique.

De même, on pourra considérer comme bacterium coli tout bacille ne prenant pas le Gram, ne liquéfiant pas la gélatine, possédant deux à six cils, coagulant le lait, faisant fermenter les sucres, donnant de l'indol, produisant un enduit brun sur pomme de terre, se développant dans

l'asparagine qu'il colore en rouge, donnant une culture dans la peptone-mannite sans changer la couleur du milieu et agglutiné par de petites quantités de coli-sérum obtenu par l'inoculation de doses croissantes d'un coli-bacille typique à des cobayes

Interprétation des résultats de l'analyse.

Le bacille typhique se retrouve difficilement dans les eaux parce qu'il disparaît rapidement de ce milieu lorsqu'il y est mêlé accidentellement. Il peut donc se faire, que dans une épidémie de fièvre typhoïde, malgré l'origine hydrique certaine de la maladie, on ne trouve pas le bacille spécifique ou qu'on ne le découvre qu'après de nombreuses analyses.

Quant au bacterium coli, il faut distinguer le cas des eaux de puits et celui des eaux de source : dans les eaux de puits, qui renferment souvent un grand nombre de matières organiques, ce bacille, très répandu dans la nature, pourra pulluler facilement — L'analyse chimique aura dans ce cas une grande importance, et il ne faudra pas rejeter à priori une eau de puits parce qu'on y aurait rencontré une petite quantité de colibacilles. Cette eau peut être parfaitement potable. Il suffira de prescrire un nettoyage sérieux du puits.

Dans les eaux de source, au contraire, le bacterium coli, comme le bacille typhique, trouve

peu d'éléments favorables à son développement. Le colibacille qui s'y trouve accidentellement doit disparaître bientôt. Aussi, lorsque des analyses répétées auront démontré la présence constante du bacterium coli dans une eau de source, cette eau devra-t-elle être considérée *comme suspecte*. La présence constante du colibacille indique avec certitude que l'eau est contaminée par des eaux de surface qui y déversent constamment le colibacille. La recherche de l'endroit de la contamination est un problème hygiénique des plus délicats.

Il faut donc élargir singulièrement l'ancienne conception des hygiénistes qui voyaient dans la présence du bacterium coli dans une eau alimentaire la preuve évidente que cette eau était souillée par des matières fécales.

Stérilisation des eaux :

Il n'entre pas dans le cadre de ce manuel d'apprécier les méthodes de stérilisation des eaux alimentaires.

Disons toutefois que les procédés chimiques n'ont donné jusqu'ici aucun résultat satisfaisant dans la pratique. Ils ont été généralement abandonnés.

Le procédé de la filtration sur sable, bien établi et bien surveillé, donne au contraire d'excellents résultats. (Hambourg.)

D'autre part, la stérilisation à l'ozone paraît actuellement le meilleur procédé pour obtenir une eau pure au point de vue bactériologique et potable au point de vue chimique (l'ozone détruisant les matières organiques).

III. — *Le Bacille typhique.*

Le bacille de la fièvre typhoïde a été signalé en 1880 par Eberth dans les organes de malades atteints de fièvre typhoïde. Gaffky a précisé ces recherches en 1884.

Examen direct.

1° *Caractères morphologiques* : Le bacille typhique se présente sous la forme de petits bâtonnets, assez courts, à extrémités arrondies, mesurant 2 à 3 μ de long sur 0.5 à 0.9 μ de large. — Il est très polymorphe : dans les cultures âgées, le bacille s'étend parfois en longs filaments de 15 à 20 μ et plus.

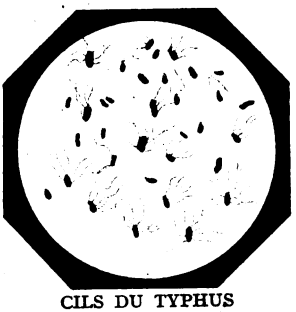
Il se décolore très facilement; il ne faut donc pas trop laver les préparations.

Il ne conserve pas le Gram.

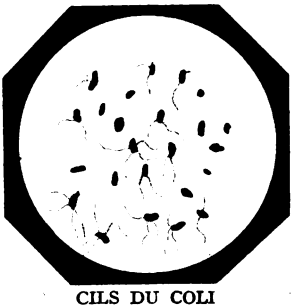
Coloration des cils.

Le bacille d'Eberth est très mobile : il possède 10 à 15 cils qu'on peut mettre en évidence par des procédés variés.

A un point de vue général, il faut employer pour la coloration des cils des couvre-objets bien propres et dégraissés ; à cet effet, on les fait

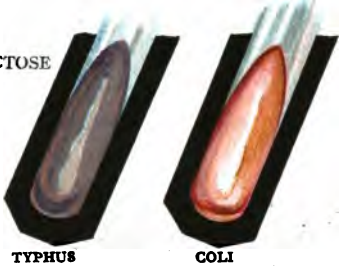


CILS DU TYPHUS



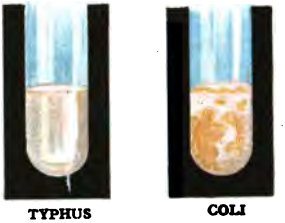
CILS DU COLI

LACTOSE



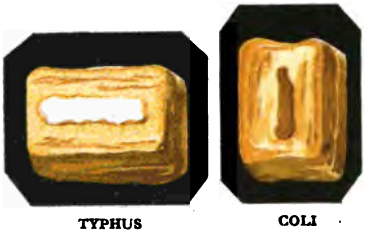
TYPHUS COLI

LAIT



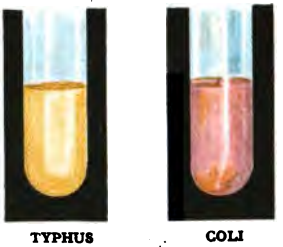
TYPHUS COLI

POMME DE TERRE



TYPHUS COLI

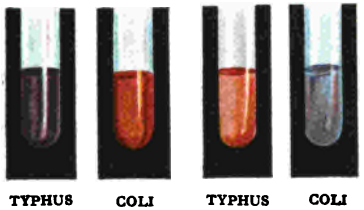
INDOL



TYPHUS COLI

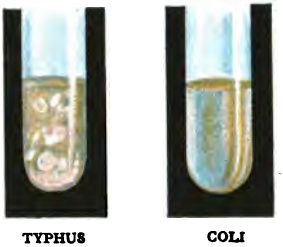
CAPALDI-PROSKAUER

ASPARAGINE MANNITE



TYPHUS COLI TYPHUS COLI

AGGLUTINATION



TYPHUS COLI

bouillir dans un mélange de bichromate de potasse (10 p.) et d'acide sulfurique (10 p.) pour 80 p. eau.

On lave ensuite à la soude caustique.

Pour bien mettre en évidence les cils, il faut prendre des cultures jeunes de douze ou dix-huit heures sur agar, émulsionner les bactéries dans de l'eau distillée et laisser déposer pendant quelques heures : les bactéries les plus mobiles restent à la surface du liquide et, en en prenant une anse, on obtient de très belles préparations.

Technique.

A. *Méthode de Löffler* :

a) Mordant (1 minute à chaud) :

Tannin, 20 p. c., 10 gr.;
Sulfate de fer sat. à froid, 5 gr.;
Sol. alcool. fuchsine, 1 gr.;
Soude, 1 p. c , 1 gr.

b) Laver abondamment ;

c) Alcool ;

d) Fuchsine anilinée (à chaud) ;

e) Eau ;

f) Monter au baume.

B. *Méthode de Van Ermengem* :

a) Laisser agir une demi-heure à froid :

Acide osmique à 2 p. c , 10 gr.;
Tannin à 25 p. c., 20 gr.;
Acide acétique glacial, 1 goutte.
(A préparer une semaine à l'avance.)

b) Laver à l'eau ;

c) Alcool ;

d) Nitrate d'argent 1 p. c. dans l'alcool à 96° quelques secondes ;

e) Mettre pendant quelques secondes et sans laver dans le développateur suivant :

Acide gallique, 5 gr.;
Tannin, 3 gr.;
Acétate de soude fondu, 10 gr.;
Eau, 350 gr.

f) Recommencer *d*) et *e*) jusqu'à coloration noire;

g) Laver à l'eau, puis à l'alcool. S'il y avait encore des précipités, donc des sels d'argent en excès, on pourrait traiter la préparation par une solution de chlorure d'or à 1/2.000 ;

h) Monter.

Méthode à l'antimoine.

C. ***Méthode de Zettnow*** :

a) Mordant à l'antimoine :

Solution *A* : Tannin, 5 gr.; eau, 100 gr.; chauffer au bain marie à 40°.

Solution *B* : Tartre stibié, 1 gr.; eau, 10 gr.; chauffer

Verser *B* dans *A* jusqu'à ce que le précipité ne se redissolve plus par l'agitation.

Chauffer le mordant sur la préparation cinq à dix minutes à 80° ;

b) Laver ;

c) Précipiter l'argent sur les bactéries par la solution suivante :

Sulfate d'argent, 4 gr.;
Eau, 500 gr. (sol. saturée); ajouter 50 p c. d'eau;
Verser goutte à goutte dans une solution d'éthylamine à 30 p. c. jusqu'à ce que le précipité brun noir d'oxyde d'Ag ne se redissolve plus;

d) Laver;
e) Monter.

La préparation du mordant et du colorant offrent certaines difficultés : mais une fois préparés, ils donnent des résultats très satisfaisants.

D. *Méthode simplifiée* : Méthode simplifiée.

On obtient d'excellentes préparations en se servant d'une modification de la méthode précédente :

a) Mordant à l'antimoine Zettnow de dix minutes à chaud;
b) Laver à grande eau;
c) Colorer à la fuchsine phéniquée.

Au lieu du mordant à l'antimoine, on peut encore prendre le mordant de Peppler qu'on laisse agir à froid pendant deux minutes.

Voici sa formule :

Tannin 20 p. c., 100 gr ;
Acide chromique 2 1/2 p. c., 15 gr.

On mélange ces deux solutions peu à peu en

agitant et on conserve pendant huit jours à 20°, puis on filtre.

Culture du bacille d'Eberth.

2° *Caractères biologiques* :

Le bacille typhique pousse facilement sur les milieux ordinaires.

En bouillon, il donne des cultures abondantes en vingt-quatre heures; le liquide est fortement troublé et il se forme à la surface une pellicule irisée qui augmente rapidement d'épaisseur. Après deux jours, on constate la présence d'un dépôt au fond du tube.

Sur gélatine, cultivé en plaques, on constate la présence de petites colonies transparentes, claires, à bord net. Le troisième jour, les colonies prennent des bords irréguliers et offrent un aspect irisé : on les a comparées à une montagne de glace ou à la face externe d'une coquille d'huître.

Sur agar : La culture est abondante, d'aspect crémeux, blanchâtre. Lorsqu'on racle une culture, le typhus réensemencé n'y pousse plus.

Le lait fournit des cultures abondantes et n'est pas coagulé.

La *toxine* typhique n'est pas connue; lorsqu'on filtre les bouillons de culture sur bougie, on constate que le liquide n'est plus toxique pour les animaux, même à très haute dose. Le poison est donc intra-cellulaire. La vitalité du

bacille est grande et il résiste parfaitement à une dessiccation même prolongée.

3° *Caractères pathogènes* :

Les animaux de laboratoire, lapins, cobayes et souris, sont très sensibles au typhus. Ils succombent par intoxication. Si les doses injectées ne sont pas trop massives, les bacilles ne se retrouvent pas dans les organes.

On reproduit difficilement les lésions de la fièvre typhoïde chez les animaux.

Chez l'homme, la porte d'entrée de l'infection est généralement l'intestin, où le bacille produit ses lésions spécifiques. De là les microbes passent dans les ganglions mésentériques et dans la rate où on les trouve toujours en grande quantité. Les symptômes les plus graves sont des symptômes d'intoxication.

L'*immunité* est bien connue : elle s'obtient par l'inoculation de doses croissantes de bouillon typhique traité par le chloroforme. Immunité contre le typhus.

Nous avons démontré en 1894 (1) la différenciation du bacille typhique et du bacterium coli par l'immunité ; cette méthode est devenue classique aujourd'hui.

Réaction spécifique de Pfeiffer : Les animaux immunisés contre le bacille typhique ont le

(1) Étude sur l'immunité contre la fièvre typhoïde. (*Journal de médecine*, décembre 1894.)

pouvoir d'agglutiner et de détruire très rapidement les bacilles d'Eberth qu'on leur inocule dans la péritoine. Leur sérum renferme une substance spécifique qui, injectée à des animaux neufs, donne à l'organisme le pouvoir de résister à l'infection et de dissoudre les bacilles les plus virulents.

Les espèces similaires ou pseudo-typhiques et le bacterium coli ne sont pas détruits.

On peut suivre la destruction des bactéries sous le microscope en puisant l'exsudat péritonéal au moyen de tubes capillaires et en examinant de dix en dix minutes en gouttes pendantes. La dissolution se produit également in vitro, d'après Pfeiffer. — (V. le chapitre de l'immunité.)

Quand à l'agglutination, elle peut s'observer déjà à l'œil nu : un mélange de sérum spécifique et de bacilles typhiques produit l'agglutination en grumeaux plus ou moins abondants.

Pour préparer le sérum spécifique qui doit servir à la différenciation du bacille typhique et des espèces similaires on injecte dans le péritoine d'une série de cobayes des doses croissantes d'une culture en bouillon tuée par le chloroforme. Il faut augmenter les doses prudemment et peser l'animal tous les jours. On n'élève ces doses que lorsque le cobaye a repris à peu près son poids primitif.

Diagnostic bactériologique de la fièvre typhoïde :

1° *Recherche du bacille dans les déjections.* Méthode de Drigalski-Conradi. Ce procédé permet de retrouver le bacille dans les déjections suspectes. Il consiste à cultiver le mélange de microbes sur de l'agar coloré en bleu par le tournesol et additionné de sucre de lait. On prépare deux solutions :

Examen des déjections.

Solution A : Agar ordinaire + 1 p. c. nutrose.
Solution B : Tournesol en solution aqueuse, 260 gr ;
Sucre de lait (chimiquement pur), 30 gr.

On ajoute à deux litres du liquide A, maintenu à 60°, le liquide B après stérilisation. A ce mélange, on ajoute 4 c. c. de soude à 10 p. c. et 20 c. c. d'une solution fraîche de krystalviolet de Höchst. On répartit en plaques de Petri.

Examen :

Après quinze heures de séjour à l'étuve à 37° l'examen démontre :

a) Que le bacterium coli donne des colonies mesurant 2-6 millimètres, d'un rouge vif et non transparentes ;

b) Que le bacille typhique donne des colonies plus petites, mesurant 1-3 millimètres, d'un bleu intense, assez transparentes.

On continue à identifier le bacille par l'agglutination spécifique.

2° *Ponction de la rate.* Cette méthode est assez sûre, mais son emploi n'est pas recommandable à cause du danger de l'opération.

3° *Recherches du bacille dans les taches rosées.* Certains auteurs prétendent avoir retrouvé le bacille d'une façon constante dans les taches lenticulaires.

Technique : On lave la peau à l'alcool-éther. On pratique une petite incision à la lancette et on gratte le fond de la plaie avec l'instrument avant l'apparition du sang; on porte la pointe de l'instrument dans du bouillon. Quand la goutte de sang apparaît, on la dilue dans une goutte de bouillon et on ensemence sur agar.

Il faut faire porter les recherches sur plusieurs taches.

Séro-diagnostic.

4° *Sérodiagnostic de la fièvre typhoïde.* Le sérum des malades atteints de fièvre typhoïde a la propriété d'agglutiner le bacille d'Eberth déjà au début de la maladie. Cette réaction se produit également avec un sérum quelconque, mais la dose doit être beaucoup plus forte qu'avec le sérum spécifique. Il faut absolument pratiquer le sérodiagnostic en titrant le sérum très exactement, sans quoi la réaction n'a aucune valeur.

Technique :

On prend le sang soit au lobule de l'oreille, soit à l'extrémité du doigt après lavage à l'éther.

On laisse tomber dix gouttes de sang dans un tube contenant 4,5 gr. d'eau. On obtient donc une solution de sang au dixième ou de sérum au vingtième.

On mélange parties égales de cette solution de sérum au vingtième avec une émulsion de bacilles typhiques dans de l'eau stérile. Cette émulsion au quarantième pourra servir de point de départ pour des dilutions plus fortes (quatre-vingtième, cent-soixantième, etc.).

On dépose le mélange à l'étuve et on examine au bout d'une heure.

Cette réaction macroscopique en tube à réactif devra être contrôlée par l'examen microscopique du liquide en goutte pendante. De plus, il ne faut jamais négliger de faire en même temps une préparation de contrôle (tube et porte-objet) avec du sérum normal dilué au vingtième.

On peut préparer l'émulsion bacillaire une fois pour toutes. Il suffit d'ajouter 1 p. c. de formaline à une culture de typhus en bouillon qui a séjourné vingt-quatre heures à l'étuve. Ce liquide se conserve pendant des mois. On part de la solution de sérum au 1/20e et on ajoute à un 1/2 c c de ce sérum 1/2 c. c. d'émulsion, ce qui donne l'agglutination au 1/40e.

Règle générale, *toute agglutination se produisant au-dessous d'un quarantième est suspecte.*

Le sérum humain normal, de personnes n'ayant jamais eu la fièvre typhoïde, a pu agglutiner à cette dilution.

Si l'on ne dispose que d'une très petite quantité de sang, on pourra pratiquer seulement l'examen microscopique de l'agglutination.

IV. — *Le Bacterium coli.*

La colibacille, hôte normal de l'intestin, a été décrit en 1885 par Escherich.

1° *Caractères morphologiques* :

Bâtonnets peu mobiles, souvent plus courts et plus épais que les bacilles typhiques.

Le colibacille possède quatre à six cils, moins nombreux et plus fragiles que ceux du bacille d'Eberth.

Il ne se colore pas par la méthode de Gram.

2° *Caractères biologiques* :

Ce bacille ne liquéfie pas la gélatine. Il donne sur les milieux solides, des colonies presque identiques à celles du bacille typhique. Sur pomme de terre, il donne un enduit brun. Il coagule le lait et fait fermenter les sucres; il

développe une odeur fétide ou fécaloïde dans les bouillons de culture.

Les cultures en bouillon donnent la réaction de l'indol avec une goutte de nitrite de potasse à 1 % et quelques gouttes d'acide sulfurique pur.

Ce bacille est identique au bacillus lactis aerogenes d'Escherich.

3° *Caractères pathogènes* :

Très pathogène pour les animaux de laboratoire, le bacterium coli produit des infections locales se terminant par intoxication mortelle. Sa virulence est assez variable et peut être augmentée facilement par le passage sur les animaux.

L'immunisation des petits animaux, des cobayes surtout, est difficile à obtenir : on les voit succomber facilement au cours de l'immunisation et on doit prendre les plus grandes précautions avant d'élever les doses de culture On dépasse difficilement la dose d'un tube de culture vivante sur agar, malgré toute la prudence qu'on a mise à élever les doses au cours de l'immunisation.

Le colibacille est un saprophyte qui pullule dans l'intestin. Il est très répandu dans la nature, et peu après la mort, il envahit complètement l'organisme.

Le colibacille domine toute la pathologie intestinale : dans certaines circonstances encore peu connues, il peut acquérir une virulence très grande, pulluler dans les organes et amener des symptômes graves d'infection.

Immunité contre le coli.

L'*immunité* contre le colibacille a été étudiée moins complètement que dans la fièvre typhoïde. Quoi qu'en disent certains auteurs, cette immunité est spécifique ; contrairement à l'opinion de Demel-Orlandi et de Sanarelli, nous avons démontré, dès 1895, que les animaux vaccinés contre le typhus ne le sont pas contre le colibacille et réciproquement. En un mot, l'immunité est spécifique et non réciproque.

Les cobayes supportent assez mal les inoculations progressives de cultures de colibacille pour l'immunisation ; cependant il est toujours utile d'avoir du colisérum à sa disposition. Le sérum étant spécifique rend les plus grands services pour identifier le colibacille dans l'analyse des eaux.

Au point de vue pratique, on peut différencier le bacille typhique et le bacterium coli par les caractères suivants, que nous croyons utile de résumer dans le tableau ci-joint :

Milieux	Bacille typhique	Bacterium coli
Motilité — Cils.	Très mobiles. douze cils.	Quatre cil
Culture sur pomme de terre	Enduit blanc.	Enduit brun.
Milieux lactosés.	Restent bleu au tournesol.	Rougissent au tournesol.
Lait.	Non coagulé.	Coagulé.
Indol.	Rien.	Coloration rose.
Lakmus molke (1).	Reste bleu.	Rougit.
Asparagine (Proskauer I) (2).	Ne pousse pas.	Pousse, coloration rouge.
Pept. mannite (Proskauer II).	Pousse, coloration rouge.	Pousse et n'acidifie pas.
Agglutination par typhus serum.	Spécifique.	Rien.
Agglutination par coliserum.	Rien.	Spécifique.

(1) *Lakmus molke :* On précipite la caséine du lait par l'acide chlorhydrique, on filtre, on neutralise et on ajoute du tournesol.

(2) *Proskauer I :* Asparagine, 0.2 p. c.; mannite, 0.2 p. c.; Na cl, 0.02 p. c ; sulfate Mg, 0.01 p. c.; chlorure de Ca, 0.02 p. c.; phosph. monopotass., 0.2 p. c.; tournesol q. s et neutraliser.

Proskauer II : Peptone, 2 p c.; mannite, 0.1 p c.; tournesol q. s. et neutraliser.

CHAPITRE VIII

L'Examen bactériologique de l'air.

I. — *Les Méthodes d'analyses de l'air.*

Les premières expériences sur les microbes de l'air datent des mémorables travaux de Pasteur. On sait que le nombre des bactéries en suspension dans l'air varie considérablement et augmente beaucoup dans les locaux habités.

La plupart des microbes qu'on rencontre dans l'air sont des saprophytes inoffensifs.

Nous connaissons cependant plusieurs maladies infectieuses, la tuberculose notamment, qui se transmettent principalement par l'air.

Les affections exanthématiques (rougeole, scarlatine) dont l'agent étiologique reste incon-

nu, semblent également se communiquer de cette façon.

Les conditions biologiques dans lesquelles se trouvent les microbes de l'air ne permettent pas la pullulation des espèces peu résistantes à la dessiccation : le choléra et la fièvre typhoïde se transmettent rarement par l'air pour cette raison.

Les streptocoques, les pneumocoques et les bacilles diphtériques, qui résistent mieux, se rencontrent plus souvent dans les poussières.

Enfin, les staphylocoques, le bacille de la tuberculose et les bactéries sporulées en général (tétanos, charbon, subtilis) peuvent vivre à l'état desséché pendant des années et trouvent dans l'air un moyen de dissémination très favorable.

Méthodes d'analyse de l'air.

On se sert des méthodes suivantes pour analyser l'air :

A. *Méthode approximative*, consistant à laisser des plaques de gélatine ou d'agar découvertes à l'air libre pendant un certain temps. On détermine les espèces qui se développent après vingt-quatre heures de séjour à l'étuve

B. *Méthode de Hesse* : On se sert d'un long tube de verre (70 c. de long sur 5 c. de diamètre) dont la paroi interne a été recouverte d'une couche de gélatine. L'air à analyser est

aspiré lentement à travers le tube au moyen de syphons gradués. Les microbes de l'air se déposent à la surface de la gélatine et s'y développent en colonies (on fait généralement passer 10 litres d'air en vingt minutes).

C. *Méthode de Petri* :

On utilise des petits tubes de verre contenant du sable stérile maintenu en couches minces au moyen d'une toile métallique du diamètre du tube.

Comme aspirateur, on se sert d'une pompe exactement graduée.

D. *Méthode de Bujwid* :

On fait passer l'air à travers des tubes à réactif contenant chacun 2 c. c. d'eau stérile.

On numère les bactéries contenues dans cette eau par les méthodes ordinaires d'analyses des eaux.

E. *Méthode de Würtz* :

On fait barboter l'air dans des récipients contenant de la gélatine liquifiée au bain-marie à 30°.

Analyse des poussières.

Pour analyser au point de vue bactériologique des poussières répandues dans un appartement, il suffit de recueillir ces poussières avec des éponges stériles humectées de bouillon. Le liquide est exprimé et analysé.

Si on recherche spécialement le bacille de la

tuberculose, on inocule un fragment d'éponge dans le péritoine d'un cobaye. On observe l'animal pendant trois semaines, puis on le sacrifie pour constater la présence des tubercules miliaires.

II. — *Les Procédés de désinfection.*

La Destruction des bactéries pathogènes de l'air.

On a reconnu que les procédés de désinfection employés jusqu'ici pour détruire les microbes répandus dans les appartements étaient absolument illusoires; les analyses bactériologiques ont démontré l'inefficacité du soufre, de l'acide sulfureux, des nettoyages à la mie de pain, des pulvérisations de sublimé etc.

Nous possédons aujourd'hui dans la formaldéhyde un gaz possédant des propriétés désinfectantes énergiques, un pouvoir de diffusion relativement élevé et n'altérant pas les objets soumis à son action.

On n'est pas d'accord sur les moyens les plus pratiques d'application du gaz ainsi que le démontrent les nombreux appareils préconisés depuis quelques années pour développer l'agent antiseptique dans les locaux contaminés. Il faut en effet éviter la polymérisation de l'aldé-

hyde phénomène qui lui enlève une notable partie de ses qualités désinfectantes.

De plus, il faut tenir compte des conditions d'absorption et de condensation du gaz.

Enfin, un certain degré d'humidité favorise notablement le pouvoir désinfectant du formol.

Nous ne citerons que pour mémoire les lampes formogènes (produisant le gaz par oxydation de l'alcool méthylique), l'appareil Shering (évaporation de pastilles de trioxyméthylène), l'appareil de Rosenberg (évaporation de formaline contenant du menthol), l'appareil Schlossmann (évaporation de formaline glycérinée), etc.

Aucun des appareils précités ne peut détruire complètement et dans un espace de temps restreint les microbes pathogènes résistants; certains de ces appareils coûtent fort cher et sont déjà peu pratiques pour ce motif.

D'après l'ensemble des travaux publiés sur cette question importante, on peut considérer que deux procédés remplissent actuellement les conditions requises pour obtenir une désinfection complète des locaux habités. Ce sont l'autoclave formogène (système Trillat) et l'appareil de Breslau (système Flügge).

A. L'autoclave formogène de Trillat est une simple marmite de Papin qui produit le gaz formaldéhyde sous pression, par le chauffage à

plusieurs atmosphères d'un liquide appelé formochlorol (mélange de formaline du commerce et de chlorure de calcium). Cet appareil est manœuvré en dehors des appartements : c'est là un avantage très sérieux. Son prix est assez élevé, mais la désinfection obtenue est complète au bout d'une heure Son emploi nécessite un personnel stylé : il est recommandable pour les grandes administrations (villes, chemins de fer, etc.) (1).

B. L'appareil de Flügge a l'avantage de pouvoir être manié par la première personne venue. On peut même l'improviser avec une simple casserole et un fort réchaud à alcool. Flügge a démontré que la formaline du commerce (formaldéhyde à 40 p. c. dans l'eau) peut être évaporée et produire un gaz non polymérisé à condition d'être très diluée. Pour désinfecter un appartement de 100 mètres cubes par exemple, on prend 800 gr. de formaline mélangés à 3 litres 200 gr. d'eau. On calcule approximativement la quantité d'alcool nécessaire pour évaporer le mélange (800 gr. en moyenne) et on laisse agir les vapeurs pendant sept heures.

(1) Pour les détails concernant l'autoclave Trillat, voir notre étude sur la valeur bactériologique des désinfections, parue en 1897 dans le *Journal médical de Bruxelles*.

Cette méthode exige donc un contact plus prolongé qu'avec l'autoclave formogène. On peut diminuer le temps nécessaire à la désinfection et le réduire à trois heures et demie en doublant la quantité de formaline mise en solution dans l'eau. Pour neutraliser l'odeur irritante et persistante de la formaldéhyde, on peut évaporer dans le même appareil une solution d'ammoniaque à 25 p. c. (800 gr. sont nécessaires pour 100 mètres cubes).

Ce procédé a l'avantage d'être très économique; Flügge a construit un appareil spécial, mais une casserole de cinq litres suffit parfaitement pour improviser un tel appareil. Il faut avoir soin d'écarter tout objet pouvant s'enflammer.

Cette méthode très simple est appelée à remplacer les systèmes préconisés jusqu'ici. Il serait plus avantageux d'employer le procédé de Flügge hors des appartements en adaptant un couvercle à la casserole avec un long tube passant par le trou de la serrure : on éviterait ainsi les dangers d'incendie en rendant possible la surveillance de l'appareil pendant toute la durée de la désinfection.

Contrôle bactériologique d'une désinfection :

Pour vérifier expérimentalement l'efficacité d'une désinfection, il faut déposer dans les coins de l'appartement des fils de soie ou des carrés

de toile imprégnés de cultures microbiennes. Le bacterium coli, les staphylocoques et les spores de subtilis sont trois espèces de microbes non pathogènes, donc faciles à manier, et offrant des degrés variables de résistance : le coli correspond à une résistance faible (typhus, choléra, etc.) le staphylocoque représente la résistance de la tuberculose et enfin les spores de subtilis ne succombent que très difficilement. En pratique, on peut considérer qu'un procédé qui détruit radicalement *tous* les échantillons de staphylocoques répandus dans un local contaminé, suffit pour anéantir la plupart des germes pathogènes.

Lorsqu'on désinfecte un appartement après une maladie infectieuse, comme la diphtérie, on se propose avant tout de tuer le germe diphtérique, et on ne doit pas avoir la prétention de *stériliser* l'appartement contaminé. Peu importe que le plancher ou les murs présentent encore des spores vivantes du bacillus subtilis !

Le contrôle de la désinfection à la formaline nécessite quelques précautions avant de procéder à la mise en culture des échantillons. Il faut avoir soin de débarrasser ceux-ci complètement de la formaldéhyde qui peut les imprégner plus ou moins abondamment. Les milieux de cultures solides sont particulièrement à éviter.

On sait qu'un mélange de 2.5 de formaline à 100,000 parties de gelatine ou de 7.5 pour 100,000 d'agar arrête toute croissance microbienne. Il faudra prendre de préférence de très petits échantillons (fils de soie ou carrés de toile de 1 c.) et les plonger dans 10 c. c. de bouillon mis à 37°. De plus, ces tubes devront séjourner à l'étuve pendant plusieurs jours consécutifs, car il arrive souvent qu'une culture reste stérile pendant deux ou trois jours et se développe tout à coup après cette période.

Désinfection des objets (literies, vêtements, etc). Les étuves à vapeur d'eau donnent de très bons résultats et sont le plus employées actuellement. Les étuves à formaldéhyde ne sont pas encore entrées dans la pratique courante Un médecin, loin des grands centres, et n'ayant pas d'étuve à sa disposition, pourra improviser un appareil à désinfection en utilisant une armoire, fermant assez hermétiquement et dans laquelle il pulvérisera de la formaline, en pratiquant un petit trou dans une paroi latérale. On pourrait y évaporer aussi une solution diluée de formaline, d'après les proportions du système de Flügge. Après un contact de douze heures, la plupart des microbes pathogènes répandus dans cette armoire sont tués. Cette installation simple et peu coûteuse pourra rendre des ser-

vices pour désinfecter des vêtements ou de petits objets contaminés. Pour désodoriser ceux-ci, il suffit de les battre au grand air.

III. — *Les Microbes du sol.*

On a abandonné définitivement l'ancienne théorie de Pettenkofer qui attribuait un rôle important aux eaux du sous-sol dans la propagation des maladies infectieuses. Le sol est en réalité un filtre microbien de premier ordre : la pénétration des microbes des couches superficielles vers les couches profondes et réciproquement est très difficile. Depuis les beaux travaux épidémiologiques de Koch, on a reconnu que le sol ne joue aucun rôle dans la transmission du choléra. On pourrait à la rigueur invoquer une certaine influence du sol pour la conservation ou la transmission des germes de la fièvre typhoïde ; cependant, le rôle des eaux alimentaires est bien autrement important ici. La seule maladie vraiment transmissible par le sol est le charbon (épizooties).

Au point de vue hygiénique, il ne peut donc plus être question de la théorie de la maturation des germes. La conservation des bactéries pathogènes peut se réaliser, dans certaines cir-

constances favorables, dans le sol, comme dans les autres milieux.

Méthodes d'analyses :

On aura assez rarement à pratiquer des examens bactériologiques du sol. Il faut appliquer ici les mêmes méthodes que celles que nous avons passées en revue pour l'analyse des eaux. Comme les échantillons de terre sont généralement contaminés par un nombre énorme de bactéries secondaires, les cultures directes sur agar ou sur gélatine ne peuvent donner aucun résultat.

Pour recueillir les échantillons à soumettre à l'analyse, il est bon de prendre certaines précautions : si l'on désire récolter de la terre à une certaine profondeur on devra se servir d'un foret spécial (Fränkel) qu'on introduit dans le sol en tournant de gauche à droite. Arrivé à une certaine profondeur, on tourne en sens inverse : il se forme une ouverture à l'extrémité inférieure de l'instrument qui se remplit alors de terre et dont le contenu servira à l'analyse.

L'analyse doit se pratiquer aussitôt pour éviter la multiplication des bactéries étrangères (comme pour les analyses des eaux).

L'analyse quantitative n'a pas grande importance, à cause des saprophytes qu'on rencontre toujours dans les couches superficielles.

L'analyse qualitative (recherche du typhus, etc.) nécessite l'emploi des méthodes spéciales, indiquées précédemment pour l'analyse des eaux.

CHAPITRE IX

Examen bactériologique du sang.

Les Bactéries du sang.

L'examen bactériologique du sang se pratique assez rarement.

Technique. Pour l'examen direct, il suffit de recueillir une gouttelette par piqûre au doigt après désinfection à l'alcool et à l'éther. — Cette goutte peut également servir pour des cultures en ensemençant le milieu avec une anse de platine; mais le sang renfermant très peu de bactéries, il est bon, pour les cultures, d'en prendre au moins 10 à 20 gouttes.

On rencontre fréquemment des streptocoques dans les cas de septicémies et parfois des pneumocoques.

Dans quelques cas de tuberculose miliaire, on a prétendu avoir retrouvé le bacille de Koch.

Parmi les microorganismes qui pullulent spécialement dans le sang nous trouvons d'abord les bacilles charbonneux et ensuite le protozoaire de la malaria.

I. — *Charbon.*

Le bacille du charbon est l'agent pathogène de la pustule maligne.

1° *Caractères morphologiques* :

Bâtonnets mesurant 5-6 μ de long sur 1 1/2 μ de large, s'allongeant en chaînes plus ou moins longues, séparés par une scissure très nette.

Se colorent très bien par le Gram.

Outre sa forme bacillaire, typique dans les organes, le charbon prend une forme filamenteuse dans les cultures et lorsque celles-ci sont âgées, on voit dans ces filaments un nombre considérable de spores.

2° *Caractères biologiques* :

Ce bacille pousse très facilement sur tous les milieux nutritifs.

a) ***Bouillon*** : pousse abondamment en formant des flocons épais très caractéristiques.

b) ***Gélatine*** : Liquéfaction.

c) ***Agar*** : Enduit grisâtre reluisant.

3° *Caractères pathogènes* :

Avec un bacille virulent, une aiguille trempée dans la culture produit la maladie par simple piqûre. L'œdême local, les ganglions, le sang, tous les organes fourmillent de bacilles.

Chez l'homme : *a*) Charbon local ou pustule maligne.

b) Charbon pulmonaire, maladie des chiffonniers.

Le bacille se répand dans le sang et se retrouve en abondance dans tous les organes.

(Voir plus loin le résultat des vaccinations anti-charbonneuses.)

II. — *Le Paludisme.*

Malaria. L'organisme qui présente le plus d'importance au point de vue de l'analyse microscopique du sang est l'agent étiologique de la malaria ou hématozoaire (plasmodium malariæ) de Laveran, parasite qui se trouve à l'intérieur ou à la surface des globules rouges et qui se nourrit de la substance même du globule.

Ce protozoaire se rencontre dans le sang sous quatre aspects différents :

1° *Les corps sphériques* (forme annulaire la plus fréquente), qui sont doués de mouvements

amiboïdes, mesurent 1 μ et plus, et sont généralement accolés aux hématies.

2° *Les corps en rosace ou segmentés*, qui présentent les degrés les plus divers de la segmentation, depuis la simple dentelure jusqu'à la forme dite en « marguerite ».

Ils représentent les différents stades de la division du parasite.

3° *Les corps en croissant* ou éléments recourbés, à extrémités effilées et renfermant du pigment à leur partie centrale.

4° *Les corps à flagelles*, éléments arrondis possédant des cils, des filaments très mobiles trois fois aussi longs qu'un globule rouge, implantés sur la circonférence en nombre variable.

Le développement du parasite de la malaria a été beaucoup étudié dans ces derniers temps et est bien connu aujourd'hui : ses transformations successives rappellent le cycle d'évolution des coccidies. Celles-ci se développent par génération asexuée (schizogonie) et par génération sexuée (sporogonie) dans le même individu. L'hématozoaire de Laveran possède également un mode de reproduction tantôt sexué (sporogonie) tantôt asexué (schizogonie). Ces deux phases du développement ont lieu chez un hôte différent : l'évolution asexuée se produit dans le sang humain (l'homme étant considéré

comme un hôte intermédiaire), tandis que l'évolution sexuée se produit dans le corps du moustique (hôte définitif).

Dans le sang humain, observé à l'état frais, le parasite a une forme amiboïde et se développe par sporulation (forme dite en marguerite). Ces spores mises en liberté constituent les mérozoïtes. — Ces mérozoïtes pénètrent dans les globules rouges et recommencent à sporuler ou bien se différencient en individus sexués. Ceux-ci constituent les corps semi-lunaires des fièvres tropicales (gamètes) qui se divisent en formes mâles (microgamétocytes) et en formes femelles (macrogamètes). Chez l'homme, ces éléments sexués ne se développent pas et succombent.

Quant au mode de développement par sporulation (schizogonie), il est probable qu'il cesse de lui-même et s'épuise après un certain temps.

Dans l'estomac des moustiques femelles (hôtes définitifs) qui ont absorbé du sang renfermant les gamètes, on voit les éléments mâles, pourvus de cils à chromatine, perdre leurs flagelles (filaments-germes . Ces spermatozoïdes deviennent libres et un microgamétocyte s'unit par conjugaison à une macrogamète, d'où résulte une zigote mobile (ookinète). Cette zigote pénètre dans la paroi de l'estomac du moustique. Elle s'y développe et s'enkyste. — On constate que

le noyau se divise et donne de sporoblastes qui deviendront eux-mêmes des sporozoïtes.

Les sporozoïtes en nombre incalculable passent dans la circulation et se répandent dans tous les organes de l'insecte. Une fois arrivés dans les glandes, ils seront incorporés à l'homme par piqûre, pour recommencer la même évolution.

Schéma de l'évolution.

En résumé, il faut considérer, dans la vie de l'hématozoaire, deux phases différentes :

1° *La phase intra-humaine* :

a) Le globule rouge est infecté par un sporozoïte (spore inoculée par piqûre des moustiques) ou par un merozoïte (spore formée dans le sang humain par division des rosaces) ;

b) Développement par schizogonie (segmentation des rosaces) et mise en liberté des merozoïtes (le cycle recommence indéfiniment) ;

c) Développement en forme semi-lunaire ;

2° *La phase extra-humaine* :

a) Le corps semi-lunaire aboutit à la formation d'un élément mâle (avec des spermatozoïdes) et d'un élément femelle ;

b) Copulation : mise en liberté des spermatozoïdes qui pénètrent dans le corps femelle (macrogamète) ;

c) Il en résulte une zigote mobile qui s'enkyste et produit les sporozoïtes.

La transmission de la malaria par les moustiques (anophèles) est un fait bien établi.

L'accès de fièvre est lié à la division du parasite (forme en rosace). La quinine administrée 5 ou 6 heures avant l'accès empêche cette division et par conséquent la fièvre.

Deux théories ont été le point de départ de nos connaissances sur l'évolution de l'hématozoaire :

1° En 1896, Manson avait cru que l'hématozoaire se développait dans l'intestin des moustiques. Quand ceux-ci succombaient, les parasites étaient mis en liberté dans l'eau ou à la surface du sol. L'homme s'infectait donc, soit en buvant de l'eau contaminée, soit en aspirant des poussières ;

2° A la même époque, Bignami a prétendu que les moustiques s'infectaient dans le sol qui renferme le parasite et donnaient la maladie à l'homme par piqûre.

S'appuyant sur ces deux théories ingénieuses, Ross a pu démontrer expérimentalement le développement cyclique du proteosoma, hématozoaire des oiseaux : ses recherches ont été confirmées par les travaux de Koch. Ross a trouvé, à côté des filaments-germes, une deuxième variété d'éléments reproducteurs (spores noires) qui représentent peut-être une forme de résistance de l'hématozoaire.

Variétés cliniques.

Les quatre affections malariennes à cycle thermique spécial qui sont produites chez l'homme par l'hématozoaire sont :

a) La fièvre quarte ;

b) La fièvre tierce ;

c) La fièvre tropicale pernicieuse ;

d) L'hématurie ou bilieuse hématurique.

L'hématozoaire prend des caractères assez spéciaux dans chacune de ces maladies.

La bilieuse hématurique serait due, d'après Koch, à une intoxication par la quinine.

Les caractères de l'hématozoaire dans les trois premières affections se résument comme suit :

	Quarte	Tierce	Tropicale
Durée de la sporulation . . .	72 heures.	48 heures.	—
Mobilité. . . .	Faible.	Forte.	Très forte.
Pigment. . . .	Très gros	Fin.	Très fin.
Altération des gl. rouges. . . .	Minime.	Forte (laitonné).	Tous sont atteints.
Nombre de spores	8	16	—
Formes semi-lunaires. . . .	Très rares.	Très rares	Abondantes

Diagnostic de la malaria.

Le sang doit être examiné au début des accès ou pendant la période fibrile.

Il faut veiller à ce que le malade n'ait pas pris de quinine avant l'examen.

On peut quelquefois procéder à l'examen microscopique direct du sang recueilli par piqûre au lobule de l'oreille ou au doigt.

Un examen de ce genre permet souvent à une personne expérimentée de poser le diagnostic de la malaria. Il est cependant préférable de recourir aux préparations fixées et colorées.

Méthode rapide.

1. *Méthode de coloration rapide* (Malachowsky) au bleu boraté.

Préparer deux solutions :

A. Bleu médicinal de Hochst, 1 p.
Eau, 100 p.
B. Borate de soude, 5 p.
Eau, 100 p.

On prend 12 gr. de la solution A et 8 gr. de la solution B. On ajoute 20 gr. d'eau distillée. On agite le mélange et on laisse reposer 24 h., sans filtrer. Ce colorant se conserve pendant plusieurs mois.

Le sang doit être étalé sur un couvre-objet bien propre (passé à l'acide sulfurique et à l'al-

cool), au moyen d'une seconde lamelle qu'on passe rapidement sur la première. Laveran a décrit un autre procédé, dans lequel prenant un carton entre le pouce et l'index en tenant la lamelle de l'autre main par un de ses coins on fait glisser le bord tranchant du carton imbibé de sang à la surface duverre. On obtient ainsi un étalement très régulier et une couche très mince.

Fixation : On fixe le sang séché par un mélange d'alcool et d'éther (2 minutes).

Coloration : On verse quelques gouttes de bleu boraté sur la lamelle (20 secondes). On lave à l'eau jusqu'à ce que la teinte soit passée au bleu verdâtre très pâle.

Examen : Les globules rouges sont colorés en vert pâle, les hématozoaires en bleu foncé et les globules blancs ont un noyau bleu également foncé.

Outre cette méthode rapide on a recommandé un grand nombre d'autres procédés. Nous n'examinerons ici que les deux méthodes les plus répandues : celle de Laveran et celle de Nocht.

Méthode de Laveran.

2. *Méthode de Laveran* (au bleu Borrel). Le réactif se prépare de la façon suivante :

On prend 50 grammes d'une solution de nitrate d'argent à 2 p.c. On y ajoute 100 grammes de soude Il se produit un précipité d'oxyde d'argent qui est lavé trois fois à l'eau distillée.

Sur cet oxyde d'argent on verse une solution aqueuse saturée de bleu de méthylène, alcalinisée par quelques gouttes de soude au 1/10e.

On laisse reposer pendant huit jours.

Technique : Pour procéder à la coloration de l'hématozoaire, on verse sur la lamelle quelques gouttes du mélange suivant :

Bleu Borrel, 4 gr.
Eau distillée, 6 gr.
Éosine 1 °/oo de l'eau, 4 gr.

On colore pendant 10 minutes.

On lave à grande eau et on passe à l'alcool à 90°. Puis on plonge la lamelle pendant une minute dans une solution de tannin à 5 °/o. Laver à l'eau, sécher. Monter au baume.

Par cette méthode, les globules rouges sont colorés en rose, les noyaux leucocytaires en violet et l'hématozoaire en bleu pâle ; son noyau est incolore et la chromatine du nucléole reste colorée en rouge violet.

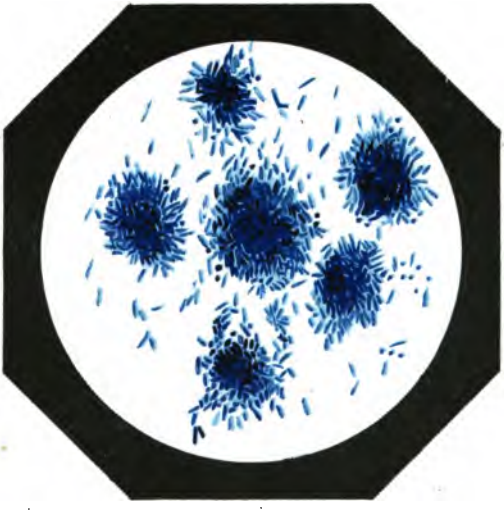
Méthode de Nocht.

3. *Méthode de Romanosky*, modifiée par *Nocht*. On prépare trois solutions :

1° Solution aqueuse de bleu polychrome de Unna (de chez Grübler) neutralisée par 5 gouttes d'acide acétique à 3 °/o ;

2° Solution saturée à chaud de bleu de méthylène ayant séjourné pendant 8 jours à 60° ;

PHAGOCYTOSE (DESTRUCTION INTRA-CELLULAIRE DES BACTÉRIES)



AGGLUTINATION ET PHÉNOMÈNE DE PFEIFFER
(DESTRUCTION EXTRA-CELLULAIRE)

3° Éosine à 1 °/₀.

Pour colorer, on prend 10 gr. d'eau distillée et on y ajoute 4 gouttes de la solution d'éosine, 6 gouttes de bleu polychrome et 2 gouttes de bleu chauffé.

On colore pendant 2 heures. On lave et on sèche.

Par cette méthode, les noyaux leucocytaires sont en rouge-violet, le protoplasme et l'hématozoaire en bleu ; la chromatine est en rouge vif.

Cette méthode donne actuellement les meilleurs résultats.

4. *Coloration sur porte-objet* (méthode de Ruge) :

On recueille le sang à l'extrémité du doigt en raclant la peau au moyen d'un deckglass pour recouvrir un de ses bords d'une petite quantité de sang.

On étale ce sang sur le porte-objet en y promenant le bord imprégné du deckglass avec une inclinaison de 45°.

On fixe par l'alcool absolu (1/2 heure au maximum).

On colore par le bleu de méthylène (Ruge) préparé comme suit :

100 gr. eau.
0.2 gr. soude : On fait bouillir.

On ajoute o.3 de bleu de méthylène pur.

48 heures après, on filtre (refiltrer tous les quinze jours).

La coloration des hématozoaires est instantanée.

Ils sont colorés en bleu grisâtre. Les formes annulaires apparaissent en bleu foncé, les globules rouges en vert jaunâtre.

Cette méthode évite la différenciation des hématozaires par des réactifs tels que l'acide acétique, le methylal (Kossel), qui sont nécessaires lorsqu'on se sert de solutions colorantes alcalines concentrées.

Elle se recommande surtout pour les examens rapides, loin des laboratoires.

CHAPITRE X

L'Immunité.

I. — *Action des bactéries sur l'organisme.*

Une maladie infectieuse peut être considérée comme une lutte entre deux éléments qu'il faut considérer séparément : le microbe d'une part, l'organisme humain de l'autre. Chacun de ces éléments dispose de forces variables : les bactéries agissent principalement par leur ***multiplication*** plus ou moins rapide, leur degré de ***virulence*** et leur pouvoir de sécréter des substances ***toxiques***. De plus, des espèces différentes peuvent s'entr'aider, et augmenter ainsi leur pouvoir pathogène (***infections mixtes et associations microbiennes***).

Pour repousser cette attaque, l'organisme humain dispose à son tour de plusieurs moyens de défense qui constituent ce qu'on appelle l'état d'immunité. Celui-ci comprend des degrés variables, depuis la résistance naturelle physiologique jusqu'aux stades les plus avancés de l'immunité acquise spécifique contre les virus ou contre les toxines.

A. *Multiplication des bactéries* : On a divisé, à un point de vue général, les microbes en deux catégories : les saprophytes et les pathogènes.

Les saprophytes sont des bactéries inoffensives qui recouvrent en plus ou moins grand nombre la peau et les muqueuses et qui trouvent là, dans les conditions normales, une barrière difficilement franchissable.

Ces saprophytes sont assez fréquemment accompagnés de microbes pathogènes dans un état de virulence latente : ceux-ci n'attendent qu'un moment propice pour se développer plus abondamment.

Ce fait s'observe fréquemment pour le bacille de Löffler qu'on découvre dans la bouche de personnes bien portantes, n'ayant jamais eu la diphtérie.

Il en est de même dans l'intestin, où le bacterium coli se retrouve toujours en abondance

sans produire de phénomènes morbides; peut-être est-il même utile pour la digestion. Dans certaines circonstances, encore mal définies, ce bacterium coli peut acquérir un pouvoir pathogène important : il arrive alors à pulluler dans les organes et y sécrète des toxines actives.

Il n'y a pas à tirer de ces faits cliniques des arguments contre la spécificité des bactéries. Les espèces microbiennes sont très constantes; un saprophyte n'a jamais pu être transformé expérimentalement en bactérie pathogène : le bacterium coli n'a jamais produit la fièvre typhoïde, comme on l'a soutenu il y a quelques années. De même, un vibrion des eaux, morphologiquement identique au bacille virgule de Koch, n'a jamais donné le choléra indien.

Les bactéries pathogènes.

Nous connaissons encore mal le rôle physiologique des saprophytes, mais l'action des microbes pathogènes sur l'organisme a été beaucoup mieux étudiée. Ces bactéries peuvent agir de façons très variables : tantôt elles restent localisées en un point déterminé du corps et s'y développent lentement : dans ce cas, le bacille est dit toxique, parce qu'il exerce son action au loin par la sécrétion de toxines dangereuses; tantôt, au contraire, les microbes se multiplient rapidement et produisent des septicémies graves par diffusion dans l'organisme tout entier.

Outre ces deux types cliniques bien caractérisés, nous connaissons encore un certain nombre d'affections intermédiaires où, selon les circonstances variant avec la virulence des bactéries ou avec la résistance de l'organisme, les microbes restent tantôt localisés en un point et tantôt envahissent les organes internes.

En un mot, l'action des bactéries pathogènes varie beaucoup : nous savons, par exemple, que le bacille du choléra est peu dangereux pour l'homme en inoculation sous-cutanée, alors que sa présence dans l'intestin produit le choléra indien. Le charbon au contraire est inoffensif dans le tube digestif et produit une maladie presque toujours mortelle lorsqu'il est inoculé accidentellement sous la peau.

Au point de vue anatomique, nous savons que les bactéries exercent leur action nocive en produisant dans les tissus, tous les degrés de l'inflammation et nous connaissons même plusieurs espèces qui provoquent des lésions plus considérables qu'on réunit sous la dénomination d'inflammations spécifiques. Dans ces circonstances, la transformation des tissus aboutit à une multiplication des cellules fixes accompagnée d'exsudation et même de nécrobiose (granulomes infectieux : tuberculose, lèpre, etc.).

L'action de chaque microbe sur les tissus est

spéciale : il doit y avoir là des affinités chimiques délicates mises en jeu, et nous savons, par exemple, que les bacilles tuberculeux tués par la chaleur provoquent, lorsqu'ils sont absorbés dans les tissus, les mêmes lésions que les bacilles vivants. L'action intime des microbes s'exerce en un mot par les substances chimiques qu'ils renferment et par les toxines qu'ils sécrètent.

Virulence.

B. *La virulence des bactéries.* Cette fonction des microbes constitue un élément important de la pathologie infectieuse et son étude mériterait d'être reprise aujourd'hui. On a opposé depuis longtemps la « virulence » des bactéries et leur « pouvoir toxique », mais nous ignorons encore actuellement les rapports qui peuvent exister entre ces deux propriétés. La virulence n'est qu'un terme assez vague par lequel on désigne le plus généralement l'effet pathogène, sans savoir exactement quelles en sont les conditions. Les microbes pathogènes présentent les degrés de virulence les plus variés et cette virulence est généralement liée à leur développement propre d'une part et à leur pouvoir toxique d'autre part.

On peut constater expérimentalement que le développement d'une bactérie peut être faible et rester localisé, si la dose de culture inoculée est

elle-même minime (streptocoque, pneumocoque) ; l'infection ne pourra devenir mortelle que si la dose injectée est très forte : dans ce cas, on a coutume de dire que la culture est peu virulente. Nous connaissons d'autres bactéries qui se généralisent toujours et agissent sur l'organisme par leur multiplication dans tous les organes (charbon). Ici, le degré de virulence est fort difficile à apprécier.

Exaltation de virulence.

Cette propriété de virulence se réduit en somme, la plupart du temps, à une question de sécrétion de toxines plus ou moins actives. On peut augmenter artificiellement la virulence par le passage d'une culture d'un animal sensible sur un autre animal également sensible : le bacille de Löffler peut être amené à un degré de virulence très prononcé par ce moyen. Voici un exemple de cette exaltation de virulence d'une culture de diphtérie, à la suite de cinq passages sur les cobayes :

un cobaye	n° 1	reçoit	0.10	de cult. :	il meurt	en 24 heures;
»	n° 2	»	0.05	» du cob. I	✠	en 24 h.
»	n° 3	»	0.01	» » II :	✠	en 36 h.
»	n° 4	»	0.005	» » III :	✠	en 2 j.
»	n° 5	»	0.001	» » IV :	✠	en 9 j.

On obtient donc au cinquième passage, une culture cent fois plus active ou cent fois plus « virulente » que la culture primitive.

Il est probable que la virulence de certaines bactéries augmente également par la présence d'autres espèces microbiennes : le bacille diphtérique, par exemple, sécrète plus de toxines si on le cultive en présence de streptocoques, ainsi que l'ont démontré nos expériences de 1894, dont nous parlerons plus loin.

Par contre, certaines bactéries peuvent s'opposer au développement d'autres espèces et diminuer leur virulence assez notablement : tel le bacille pyocyanique mis en présence du charbon ou bien le prodigiosus en présence du charbon symptomatique.

Il semble donc, en résumé, que la virulence soit en rapport avec la vitalité d'un microbe (reproduction plus ou moins rapide) et surtout avec sa fonction toxique (sécrétion de toxines actives).

C. *Les toxines* : La production des toxines constitue la propriété la plus intéressante des bactéries, et celle par laquelle elles exercent le plus généralement leur action. On y rapporte actuellement la plupart des symptômes de beaucoup de maladies infectieuses. Le phénomène de production des toxines est bien connu au point de vue expérimental, mais son mécanisme intime nous échappe absolument. On parle trop souvent de *toxines* en bactériologie ; les toxines

Toxines

du vibrion du choléra, du bacille de la fièvre typhoïde, du bacille de la tuberculose, du pneumocoque, etc., nous sont absolument inconnues, et si leur existence ne peut plus être mise en doute au point de vue de la pathogénie des symptômes observés pendant l'infection, aucune expérience n'a réussi jusqu'ici à les mettre en évidence dans les cultures; les bouillons filtrés sur bougie, c'est-à-dire privés de germes, sont inoffensifs. C'est ce fait qui a amené la division artificielle des maladies infectieuses en maladies toxiques (tétanos, diphtérie) dont on obtient très facilement les toxines in vitro, et en maladies infectieuses proprement dites, où le microbe ne sécrète pas de poisons décelables. Il est probable que nous obtiendrons un jour toutes ces toxines quand les milieux de culture auront été perfectionnés suffisamment pour permettre l'isolement de ces substances délicates.

Production des toxines.

Nous avons déjà constaté que la production toxique est en rapport pour certaines affections, comme la diphtérie, avec la virulence du microbe. Un bacille peu virulent donne une toxine peu active qui tue le cobaye à la dose de 20 centigr.; le même bacille rendu virulent par des passages produit une toxine qui tue à une dose cent fois moindre.

La production toxique intimement liée à la

virulence est souvent augmentée encore par les associations microbiennes : dans la diphtérie, par exemple, le streptocoque aide puissamment l'action toxique du microbe.

Dans l'état actuel de la science, il n'est pas possible de caractériser chimiquement les toxines. Ces corps sont très instables et on ne peut les obtenir à l'état de pureté. Ehrlich a même montré qu'il est difficile de les séparer de certains produits de transformation, les toxoïdes, qui ont probablement une constitution chimique analogue.

Action des toxines.

L'organisme humain est très sensible aux toxines microbiennes. Expérimentalement, leur action se manifeste toujours après une certaine période d'incubation et Ehrlich a montré qu'on ne peut jamais éviter cette période d'incubation, quelle que soit la dose de toxine inoculée.

Cette propriété importante distingue les toxines des poisons chimiquement définis. Ceux-ci, remarquons-le en passant, sont incapables de produire dans l'organisme des antitoxines, contrairement à ce qu'on avait pensé il y a quelques années.

L'action d'une toxine sur l'organisme a donc un caractère bien spécial. Ehrlich a émis l'hypothèse, vérifiée du reste expérimentalement, que pour qu'une substance soit toxique elle doit

se combiner chimiquement, d'une façon spécifique, avec certains groupements atomiques du protoplasma cellulaire.

Il est nécessaire d'entrer ici dans certains détails qui faciliteront la compréhension des phénomènes de l'immunité.

Ehrlich a admis depuis longtemps que tout protoplasma vivant se compose d'un noyau central et de chaînes latérales à fonctions variables.

Théorie des chaînes latérales.

Lorsqu'une chaîne latérale possède le groupement atomique spécifique qui peut se combiner au groupement atomique de la toxine, on voit cette toxine, solidement ancrée au protoplasma, exercer son action nocive et toxique. Cette combinaison ayant eu lieu, la chaîne latérale a perdu ses propriétés physiologiques; il s'ensuit qu'elle est rejetée et remplacée par une chaîne latérale intacte.

Nous verrons toute l'importance de cette théorie pour expliquer l'origine des antitoxines.

Il est donc bien évident que l'action des toxines sur les cellules est une action élective. Il est démontré d'ailleurs que le poison tétanique subit une combinaison chimique avec les cellules nerveuses. (Blumenthal.)

Les poisons chimiquement définis, contrairement aux toxines, ne peuvent pas se combiner

avec les chaînes latérales du protoplasma. Seules les toxines et les substances nutritives ont le pouvoir d'être véritablement assimilées et définitivement fixées par ces chaînes latérales. Tout comme les toxines, les substances nutritives forment des anticorps spécifiques (coagulines, précipitines). La combinaison des chaînes latérales avec les matières nutritives est la même qu'avec les toxines. La seule différence, c'est que les récepteurs ou chaînes latérales qui fixent la toxine sont beaucoup plus simples que ceux qui fixent les substances nutritives. En effet, tandis que les récepteurs pour la toxine ne possèdent qu'un groupement atomique haptophore qui se combine au groupement atomique haptophore de cette toxine, les récepteurs pour les matières nutritives possèdent deux groupements, un groupement haptophore pour faire la combinaison et un groupement zymotoxique pour faire fermenter la molécule nutritive combinée. Nous verrons au chapitre de la bactériolyse qu'il existe une troisième classe de récepteurs encore plus compliqués, les ambocepteurs. Les deux groupes de récepteurs que nous venons d'examiner sont réunis sous le nom générique d'*unicepteurs* par opposition au 3e groupe ou ambocepteurs qui sont les substances bactéricides spécifiques. Retenons donc que c'est la

Les récepteurs cellulaires.

propriété des toxines de se combiner intimement au protoplasma qui leur donne le pouvoir de produire des antitoxines contrairement aux autres poisons, tels que les alcaloïdes, les matières colorantes, les antipyrétiques, qui eux ne se combinent pas intimement et ne donnent pas d'antitoxines.

Composition chimique des toxines.

Les belles expériences d'Ehrlich sur la constitution du poison diphtérique ont montré que dans les molécules de toxine, sécrétées par le bacille de Löffler, il existe deux groupements atomiques différents : le groupement haptophore et le groupement toxophore. Ces deux éléments diffèrent quant à leur résistance : l'élément toxophore est instable et se détruit facilement ; l'élément haptophore est beaucoup plus résistant : c'est lui qui intervient principalement dans la production des antitoxines. La partie du protoplasma (chaînes latérales) avec laquelle la toxine contracte sa combinaison sont, nous venons de le voir, les récepteurs cellulaires.

Les toxones.

Le bacille diphtérique peut sécréter, outre la toxine, une substance qu'Ehrlich appelle *toxone*, qui est peu toxique mais se combine néanmoins à l'antitoxine, tout en possédant pour celle-ci une avidité moindre que la véritable toxine.

On démontre la présence des toxones par

l'expérience suivante : Un mélange neutre de toxine et d'antitoxine ne devient mortel pour les animaux que par l'addition de 20 ou 30 doses mortelles simples de toxine. Ehrlich a montré que ce phénomène ne peut s'expliquer que par la présence des toxones. En effet, dans cette expérience, la toxine qu'on ajoute au mélange neutre ayant une affinité plus grande pour l'antitoxine que la toxone préexistant dans le mélange, chasse la toxone de ses combinaisons et la remplace aussitôt. Ceci explique que pour rendre le mélange mortel pour les animaux en expérience, il faut y ajouter non pas une dose mortelle de toxine, mais bien vingt ou trente doses selon la quantité de toxones présentes dans le mélange.

Des expériences analogues ont montré que la toxine tétanique contient aussi des toxones (tétanolysine de Madsen).

La toxone, nous l'avons vu, est sécrétée par le bacille de Löffler. Ehrlich a encore montré la présence d'autres corps qui proviennent de la transformation de la toxine en corps non toxiques ou *toxoïdes*.

Les toxoïdes.

Dans les toxoïdes les groupements haptophores seuls persistent ; les groupements toxophores sont détruits. Ces corps, n'ayant donc plus d'action toxique, sont difficile à déceler.

Mais ils conservent la propriété de neutraliser l'antitoxine et peuvent même servir, au cours de l'immunisation, à produire des antitoxines. Nous verrons ultérieurement les méthodes d'immunisations qui emploient les toxoïdes pour produire le contre-poison.

D. *Les associations microbiennes et les infections mixtes*. On a souvent observé en clinique que l'action pathogène d'une bactérie pouvait être renforcée par l'intervention d'autres espèces, souvent inoffensives par elles-mêmes.

Dans les maladies infectieuses, les associations microbiennes sont très fréquentes et on peut considérer l'infection pure comme une exception. Ainsi, dans les suppurations, il y a presque toujours deux staphylocoques en jeu, souvent un staphylocoque et un streptocoque.

L'infection diphtérique n'est presque jamais isolée, le bacille de Löffler se présentant toujours associé au staphylocoque ou au streptocoque.

Le microbe associé, qui est généralement un saprophyte, peut prendre, dans certains cas, une importance plus considérable, et on connaît la gravité des diphtéries septiques où le streptocoque pyogène domine le tableau morbide.

Dans la fièvre typhoïde, on observe parfois des suppurations dues aux staphylocoques ou

aux streptocoques : ces microbes profitent de l'affaiblissement du terrain produit par la maladie primitive pour se développer abondamment et envahir l'organisme.

Dans la tuberculose, on voit fréquemment le streptocoque ou le bacille de l'influenza venir se mêler aux lésions tuberculeuses et aggraver le pronostic de la maladie.

On pense qu'il y a plus qu'une superposition de deux infections dans toutes ces maladies combinées et il faut admettre l'action réciproque d'une espèce microbienne sur l'autre, avec augmentation de virulence ou de toxicité d'un des deux côtés.

Infection mixte.

Les vérifications expérimentales de ces faits cliniques sont encore peu nombreuses : pour étudier l'action de deux bactéries, il faut éviter de produire une double infection : on connaît les expériences classiques de Roux et Yersin sur l'infection mixte dans la diphtérie et celles de Vincent sur les associations microbiennes de la fièvre typhoïde.

Pour étudier cette question intéressante, nous avons pensé qu'il serait utile de neutraliser les effets d'une des bactéries par un sérum spécifique exactement dosé et nous avons publié, en 1894, une série d'expériences sur l'infection mixte dans la diphtérie, dans lesquelles nous

avons eu soin de neutraliser les effets du bacille de Löffler par le sérum antidiphtérique ; nous avons pu constater alors d'une façon indiscutable que les streptocoques augmentent réellement la sécrétion toxique des bacilles diphtériques.

Nos expériences ont été confirmées par plusieurs expérimentateurs qui ont réussi depuis à démontrer que le bacille diphtérique mis en culture avec certains streptocoques sécrète plus de toxines que lorsqu'il est cultivé seul. (Hilbert.) C'est donc la démonstration *in vitro* du phénomène que nous avions mis en évidence dans l'organisme du cobaye.

Ces faits expérimentaux nous permettent d'entrevoir toute l'importance de l'infection mixte et des associations microbiennes dans le cours d'une maladie infectieuse et méritent d'être considérés avec attention par le clinicien.

II. *Action de l'organisme sur les bactéries.*

Nous avons passé en revue les forces dont disposent les bactéries pour attaquer le corps humain dans la lutte entre l'élément infectant et l'organisme infecté qui constitue en réalité une « maladie infectieuse ».

Considérons maintenant les éléments de

défense qui peuvent empêcher les bactéries pathogènes d'exercer leur action nocive.

On réunit tous ces phénomènes favorables à l'organisme sous la dénomination générale d'immunité, terme qui s'applique à tous les degrés de résistance, depuis l'immunité naturelle jusqu'à l'état réfractaire spécifique le plus complet.

Nous étudierons successivement :

1° La résistance naturelle contre les microbes ;

2° La résistance naturelle contre les toxines ;

3° L'immunité acquise contre les microbes ;

4° L'immunité acquise contre les toxines.

1° *La résistance naturelle contre les microbes.*

Le pouvoir des êtres vivants de se défendre contre l'invasion microbienne ne dépend pas, comme on l'avait cru jadis, de l'impossibilité, pour les microbes, de vivre et de se développer dans les liquides et dans les tissus de l'organisme.

Nous connaissons, dans l'échelle animale, des êtres réfractaires à certaines infections et dont le sang offre cependant un milieu de culture favorable aux microbes de ces maladies. Le pigeon est réfractaire à l'influenza et le bacille de Pfeiffer se développe cependant fort bien dans le sang de cet oiseau De même, la

grenouille est réfractaire au charbon et la bactéridie croît facilement dans les humeurs de ce batracien. Nous savons aujourd'hui, grâce aux expériences de Metchnikoff, que la résistance naturelle vis-à-vis des infections, est due le plus souvent au pouvoir que possèdent les leucocytes d'englober les bactéries, de les digérer et enfin de les détruire : l'ensemble de ces phénomènes constitue la phagocytose.

Théories de l'immunité.

A côté de cette réaction cellulaire, on a constaté que le sérum du sang possède un pouvoir bactéricide réel. Ces deux propriétés de l'organisme vivant — la phagocytose et l'état bactéricide du sang — sont exaltées au cours de l'immunité et elles ont pu être considérées, chacune pour leur part, comme en étant la cause principale. L'école allemande soutenait, jusqu'en ces derniers temps, la théorie humorale, attribuant le rôle important à l'action bactéricide et niant l'importance de la phagocytose, tandis que l'école française affirmait l'action primordiale des globules blancs, c'est à dire de la phagocytose, dont les autres phénomènes dériveraient directement.

Nous verrons, à propos de l'immunité acquise, que ces deux opinions extrêmes tendent à se rapprocher notablement aujourd'hui et qu'à part quelques phénomènes d'ordre secondaire,

d'ailleurs encore très obscurs, les promoteurs de ces deux théories sont bien près de s'accorder sur les points principaux du problème. L'avenir du traitement des maladies infectieuses dépend de la solution de cette question importante.

Examinons donc séparément chacun des deux phénomènes, la phagocytose d'une part et l'état bactéricide du sérum normal d'autre part

A. *Phagocytose.*

Les phagocytes.

Metchnikoff a prouvé que la phagocytose ou réaction cellulaire de l'organisme vis-à-vis des corps étrangers, et spécialement des bactéries, se retrouve dans l'échelle animale tout entière. Cette découverte fut très combattue il y a quelques années ; mais l'importance de la phagocytose tend de plus en plus à être généralement admise aujourd'hui.

On a pu constater, dans des expériences précises, que les leucocytes sont attirés par les sécrétions microbiennes et qu'ils digèrent les bactéries après les avoir englobées.

Les microbes sont-ils englobés à l'état vivant? Il semble qu'oui, parce que leur coloration par le rouge neutre est très nette, que leur mobilité, dans les leucocytes, s'observe très facilement et que leur faculté de repulluler encore après l'englobement n'est pas douteuse.

Le phénomène de la phagocytose peut être mis en évidence d'une façon très simple : il suffit d'inoculer dans le péritoine d'un cobaye une dose minime, non mortelle, de culture de typhus ou de choléra. L'exsudat péritonéal, prélevé de dix en dix minutes, au moyen d'une pipette en verre effilé et observé sous le microscope en goutte pendante, présente l'aspect suivant :

On constate d'abord la disparition des leucocytes ; au début, les microbes nagent dans un liquide pour ainsi dire privé de globules blancs. Cette période est celle de la phagolyse. On voit arriver petit à petit des phagocytes, qui engagent la lutte avec les microbes et ne tardent pas à les englober. Les microbes absorbés changent de forme, deviennent globuleux et finissent par disparaître complètement.

Quels sont les leucocytes qui prennent part à la lutte contre les envahisseurs et débarrassent notre organisme de ces hôtes dangereux ?

On considère généralement deux variétés de phagocytes :

a) Les phagocytes ***mobiles***, représentés par tous les globules blancs du sang et de la lymphe, à l'exception des lymphocytes ou petits mononucléaires, qui n'ont pas d'action phagocytaire.

b) Les phagocytes ***fixes***, ne circulant pas dans

l'organisme, mais poussant des prolongements amiboïdes dans plusieurs directions, ce qui leur permet de saisir les bactéries et les corps étrangers. Ils sont représentés surtout par les grosses cellules de la rate et des ganglions lymphatiques, les cellules de la névroglie et les cellules des endothéliums.

Macrophages et microphages.

Metchnikoff appelle *macrophages*, tous les phagocytes fixes, ainsi que les gros mononucléaires du sang, et *microphages*, les leucocytes à noyaux polymorphes ainsi que les leucocytes éosinophiles. Le rôle physiologique de ces deux variétés de phagocytes est nettement différent : les microphages sont les véritables destructeurs des bactéries, tandis que les macrophages digèrent plutôt les cellules plus grandes et exercent également leur action sur les toxines microbiennes. La fonction digestive des phagocytes serait due à la présence constante dans leur protoplasme d'un véritable ferment soluble, auquel on donne le nom de cytase.

En résumé, le phénomène de la réaction cellulaire contre les microbes pathogènes comprend les phases suivantes :

Il y a d'abord attraction entre les leucocytes et les bactéries (chimiotaxie positive) ; il se produit ensuite une diapédèse des leucocytes hors des vaisseaux ; on observe en troisième

lieu l'englobement des bactéries par les phagocytes, et enfin leur déformation et leur digestion complète, aboutissant à leur dissolution dans le protoplasma cellulaire. Comme nous l'avons dit plus haut, c'est Metchnikoff qui a mis ces faits en évidence, en démontrant que la phagocytose sert de moyen de protection contre les éléments étrangers à tous les êtres de la série animale

B. *Etat bactéricide des humeurs.*

Von Fodor a constaté le premier que les bacilles du charbon sont détruits *in vitro* dans du sang de lapin. Le pouvoir microbicide du sang a été confirmé ensuite dans les expériences de Nuttall (1888), qui a trouvé que cette propriété disparaît par le chauffage à 55°.

Buchner a démontré vers la même époque, que le sérum jouit de propriétés antiseptiques tout comme le sang complet. Il a donné le nom d'*alexine* à la substance à laquelle il attribuait cette action spéciale du sérum. Ses travaux ont été le point de départ de la théorie humorale de l'immunité.

Enfin, Behring et Nissen ne tardèrent pas à mettre en évidence ce fait important qu'un sérum donné n'est pas bactéricide pour toutes les espèces microbiennes et que la destruction des bactéries subit de grandes variations d'après

l'espèce animale qui a fourni le sérum et d'après le microbe envisagé.

Après ces travaux classiques, Buchner étudia plus en détail l'action des substances bactéricides ou alexines ; il observa que ces alexines se retrouvent aussi bien dans le sérum normal que dans le sérum spécifique provenant d'un animal immunisé. D'après ses expériences, l'alexine agit à la façon des ferments solubles : il a démontré, en effet, qu'elle est détruite par une température de 55°, au bout d'une heure ; ce sont des corps très instables, qui diminuent assez rapidement dans un sérum laissé à la température ordinaire, pendant quelques jours. Ils se détruisent d'eux-mêmes et progressivement par le repos prolongé. Ils paraissent n'agir qu'en présence des sels et le sulfate de soude à 40 % les précipite. Les alexines.

Le rôle des alexines dans le mécanisme de l'immunité naturelle et acquise est devenu primordial, ainsi que nous le verrons bientôt.

Quelle est l'origine des alexines ?

Cette question est encore très obscure et il y a, en effet, de très grandes difficultés pour la résoudre.

Buchner considérait les alexines comme provenant des globules blancs. C'est, d'ailleurs, l'opinion généralement admise. On sait que

l'état bactéricide du sérum augmente sensiblement avec la leucocytose, que les exsudats remplis de leucocytes sont plus microbicides que le sérum, et enfin, que le sang est moins bactéricide, si on le retire pendant une période d'hypoleucocytose : tous ces faits semblent plaider en faveur de l'origine leucocytaire des alexines. Cependant, les expériences tentées jusqu'ici pour isoler ces substances des globules blancs sont restées sans résultats.

Metchnikoff a émis l'hypothèse que les alexines ne sont mises en liberté que par la mort ou l'avarie des leucocytes. D'après lui, le sang circulant n'est pas bactéricide; la substance antiseptique qu'on trouve dans les sérums après la coagulation du sang proviendrait directement des leucocytes au moment de la formation du caillot. Il est possible cependant qu'il y ait également une sécrétion leucocytaire active pendant la vie des globules blancs.

D'après la théorie phagocytaire, les alexines ou cytases offrent deux variétés distinctes : la cytase produite par les microphages ou microcytase agirait spécialement sur les microbes, et la cytase mise en liberté par les macrophages ou macrocytase exercerait principalement son action sur les cellules plus grandes. Il faut reconnaître en effet, que lorsque les exsudats

sont riches en microphages, ils sont généralement très bactéricides.

Contrairement à cette hypothèse, Ehrlich pense que les alexines se trouvent en dissolution dans tous les sérums, mais ces corps seraient inactifs par eux-mêmes. D'après ce savant, pour qu'un sérum soit réellement bactéricide, il doit renfermer, outre le complément ou alexine qui est la substance active, un corps intermédiaire (*Zwischenkörper* ou *Ambocepteur*) qui résiste à la chaleur et qui doit servir de trait d'union entre la cellule à détruire (microbe, globule rouge, etc.) et le corps dissolvant, l'alexine. Nous aurons l'occasion de reparler de ces deux substances et d'étudier leur action dans le chapitre de l'immunité acquise.

La résistance naturelle de l'organisme aux infections microbiennes peut être modifiée par des causes multiples. Ainsi l'élévation de température du corps rend l'individu plus résistant et Löwy et Richter ont montré que des lapins maintenus à 41° sont réfractaires à l'infection pneumococcique. Cette question encore peu explorée est intéressante au point de vue clinique, parce qu'elle se rattache directement à l'action de la fièvre comme moyen de protection de l'organisme dans les infections les plus diverses.

D'autres conditions peuvent modifier la résistance, notamment l'inoculation préalable d'extraits glandulaires, de sérums normaux, même de solutions salines. (Issaeff.) On semble d'accord pour rapporter ces effets à une excitation passagère de la phagocytose qui se manifeste d'ailleurs par une leucocytose plus ou moins abondante. Dans les expériences sur les animaux, spécialement dans les inoculations intra-péritonéales, cette leucocytose est précédée d'un état spécial de phagolyse, c'est-à-dire de destruction momentanée des leucocytes. Metchnikoff pense que ce phénomène est en rapport direct avec la mise en liberté de substances bactéricides actives. L'exaltation de la phagocytose semble d'ailleurs la seule explication plausible que nous possédions de cette résistance passagère de l'organisme, depuis que nous savons qu'il n'y a aucun rapport causal entre la disposition à l'infection et la valeur microbicide du sérum.

Nous avons vu précédemment que, des animaux sensibles à certaines maladies possèdent un sang éminemment bactéricide contre les microbes correspondants, alors que d'autres animaux véritablement réfractaires ont un sérum tout à fait indifférent. Le chien, est réfractaire au charbon et son sérum est cependant un excellent milieu de culture pour ce

microbe; le lapin, par contre, est très sensible à l'infection charbonneuse et son serum est nettement bactéricide pour la bacteridie du charbon.

Disposition aux infections.

On voit donc que la disposition à l'infection est un phénomène très individuel, encore assez obscur et qui peut dépendre de facteurs multiples variant avec les espèces, les races et même les individus.

En général, la résistance naturelle n'est pas très développée et les exemples d'état réfractaire absolu sont très rares.

L'ancienne expérience de Pasteur qui a rendu la poule sensible au charbon en refroidissant ses pattes, a rétréci le cadre de l'immunité naturelle et rappelle certains faits cliniques qu'on réunit sous le nom de microbisme latent. Au point de vue clinique, on a pu démontrer la présence de bacilles diphtériques virulents dans la gorge de personnes bien portantes, et on a retrouvé fréquemment le pneumocoque, également virulent, dans la salive normale.

En réalité, l'immunité naturelle, à quelque degré qu'on l'envisage, soit comme un manque de disposition à l'infection, soit comme un état réfractaire prononcé, semble pouvoir s'expliquer plutôt par une sensibilité spéciale des leucocytes que par la présence de substances bactéricides plus ou moins actives. Il est probable que dans

les phénomènes de résistance naturelle à l'infection, le rôle important est dévolu à la phagocytose ainsi que Metchnikoff l'a soutenu depuis de longues années.

2° *L'immunité naturelle contre les toxines.*

Il n'existe aucun parallélisme entre l'immunité naturelle contre les microbes et l'immunité contre les toxines. Nous connaissons dans l'échelle animale et spécialement chez les vertébrés des exemples typiques d'immunité naturelle contre certaines toxines microbiennes. La poule, par exemple, est insensible au poison tétanique et le rat supporte impunément des doses énormes de poison diphtérique.

Les explications les plus ingénieuses n'ont pas manqué pour tenter d'éclaircir ce problème obscur. Aujourd'hui encore, nous en sommes réduits à des hypothèses : on a été tenté de rapporter ce phénomène à la présence d'antitoxines normales dans le sang des animaux réfractaires; cette théorie ne peut plus se soutenir actuellement et a été définitivement abandonnée.

L'explication de cette immunité naturelle par l'insensibilité spéciale des cellules vivantes est peu probable, depuis que Roux est parvenu à tuer facilement les animaux réfractaires par l'inoculation intra-cérébrale. Cette expérience rend également peu vraisemblable l'explication

de Behring qui admet l'existence d'une immunité « histogène », provoquant une insensibilité héréditaire de certains territoires cellulaires pour certains poisons.

Nous verrons plus loin que, d'après la théorie d'Ehrlich, on pourrait invoquer chez ces animaux l'absence de « récepteurs » c'est-à-dire de cellules sensibles aux toxines.

Nous savons que si la poule est réfractaire au poison tétanique, c'est que sa substance nerveuse (Blumenthal) offre une affinité minime pour ce poison et même dans les expériences *in vitro*, la moelle épinière de cet oiseau triturée avec un peu de toxine ne possède pas le pouvoir de la neutraliser, contrairement à ce qui se passe d'habitude pour les autres espèces animales. Quoi qu'il en soit, ce chapitre intéressant de l'immunité a été peu exploré jusqu'ici et mériterait une étude approfondie.

3° *L'immunité acquise contre les microbes.*

Immunité spécifique.

L'immunité spécifique, qu'on oppose généralement à la résistance naturelle, est dirigée principalement contre *un* microbe donné ou *une* toxine spéciale qui auront servi à produire l'état réfractaire.

Ce sont les belles expériences de Pasteur sur le choléra des poules qui ont été le point de départ de toutes les recherches expérimentales

dans ce domaine fécond de la bactériologie.

Notons tout d'abord que l'immunité spécifique contre les microbes peut s'acquérir de façons différentes, notamment :

1° Par une *atteinte antérieure* de la maladie, qui produit dans l'organisme des modifications assez profondes pour rendre celui-ci réfractaire à une nouvelle infection (exemple : la variole) ;

2° Par l'inoculation d'un *virus atténué*, c'est-à-dire de microbes vivants dont la virulence a été diminuée artificiellement d'après le principe de Pasteur (inoculations antirabiques) ;

3° Par l'injection de *cultures microbiennes* vivantes ou tuées (vaccinations préventives contre le choléra, la fièvre typhoïde) ;

4° Par l'inoculation de *substances chimiques extraites* des cultures (malléine, tuberculines, etc.)

Ces différents procédés, qui ont pour but de créer une immunité spécifique *active*, amènent dans l'organisme des transformations durables. En effet, cet état réfractaire apparaît assez tardivement mais persiste longtemps, souvent pendant plusieurs années, et les modifications cellulaires qui l'accompagnent impliquent généralement un état morbide préalable. Du reste, des recherches récentes ont montré qu'il ne s'agit pas là d'une réaction spéciale de l'organisme contre les microbes pathogènes, mais d'une

réaction plus générale, dirigée contre des substances étrangères quelconques.

Par l'immunisation, nous obtenons non seulement des sérums actifs contre les bactéries et leurs toxines, mais encore contre les globules rouges, contre certains ferments (antitrypsine) et même contre certains éléments cellulaires (épithéliums, globules blancs, etc.).

Immunité active et passive.

Les faits que nous venons de rapporter s'appliquent à l'immunité *active*. Ehrlich a opposé à cette immunité l'état réfractaire obtenu par l'inoculation d'un sérum spécifique ou immunité *passive* (sérothérapie).

Le principe de l'immunité passive a été découvert en 1877 par Raynaud, qui a montré que le sérum de veau vacciné protège contre la vaccine.

La découverte faite par Behring et Kitasato de l'action antitoxique du sérum des animaux immunisés contre la diphtérie et le tétanos a été suivie de la démonstration de sérums antitoxiques contre certains poisons végétaux (Ehrlich) et contre les venins des serpents (Calmette).

L'inoculation sous-cutanée d'un sérum antitoxique est une opération inoffensive par elle-même : l'immunité passive qu'elle confère n'implique pas d'état morbide préalable, s'éta-

blit instantanément et sa durée ne se prolonge pas au delà de six semaines.

Les différentes méthodes d'immunisation aboutissent à activer la phagocytose et à former dans le sang des substances spécifiques qui influencent la vitalité des microbes ou neutralisent leurs toxines.

Dans l'immunité bactéricide, résultant de l'inoculation des corps microbiens, on voit se former dans le sang des animaux immunisés des substances qui ont la propriété de rendre les microbes aptes à être détruits par les alexines ou compléments.

Dans l'immunité antitoxique, résultant de l'inoculation des toxines microbiennes on obtient un sérum doué de propriétés neutralisantes vis-à-vis de ces toxines.

Dans le présent chapitre nous ne nous occuperons que du mode d'action des sérums bactéricides.

Mode d'action des sérums bactéricides.

Fränkel et Sobernheim ont prouvé, en 1894, que les sérums spécifiques supportent impunément l'action de la chaleur : un sérum bactéricide, chauffé à 55° pendant une demi-heure, confère encore l'immunité à un animal neuf. Bordet a montré, vers la même époque, que les sérums bactéricides contiennent deux substances différentes : la première résiste à la cha-

leur et représente la *substance spécifique*, encore appelée substance préventive, anticorps, sensibilisatrice, corps intermédiaire, préparateur, fixateur (Metchnikoff), ou ambocept eur lich). La seconde substance est très instable et se détruit facilement : c'est l'alexine de Buchner, encore appelée addiment, cytase (Metchnikoff) ou complément (Ehrlich). Nous verrons plus loin l'influence réciproque de ces deux corps qui donnent à un sérum des qualités bactéricides et spécifiques.

Nos connaissances sur l'immunité ont fait un grand pas, à la suite de la déccuverte du phénomène de Pfeiffer, c'est-à-dire de la dissolution extra-cellulaire des bactéries. Pfeiffer a démontré, en 1895, que les microbes du choléra se dissolvent dans l'exsudat péritonéal des animaux immunisés (bactériolyse). Phénomène de Pfeiffer.

On peut répéter cette expérience de deux façons : ou bien en injectant, dans le péritoine d'un cobaye immunisé, une dose mortelle de culture de vibrion du choléra, ou bien en inoculant à un animal neuf, une émulsion de vibrions dans du sérum spécifique. Dans les deux cas, le résultat est le même et l'animal survit.

On prélève l'exsudat péritonéal de 10 en 10 minutes, au moyen de tubes capillaires, et on examine, au microscope, en goutte pendante. On

constate d'abord l'immobilisation des vibrions et leur agglutination, puis la formation de granules arrondies, dont la plupart ne donnent plus signe de vie. Pfeiffer prétend que les granules peuvent même se dissoudre complètement dans le liquide péritonéal. Ce fait est contesté par beaucoup d'expérimentateurs, qui n'ont pas pu observer ce stade ultime de la dissolution. Le phénomène de Pfeiffer est surtout typique pour les infections vibrionniennes. Avec les infections bacillaires, notamment le bacille typhique, la transformation en granules, tout en existant réellement, s'observe plus difficilement et d'une façon moins typique.

En répétant l'expérience fondamentale de Pfeiffer, Metchnikoff est parvenu à la reproduire sans le secours de l'organisme, dans un tube à réactif.

Continuant ces recherches, Bordet a observé *in vitro* la granulisation des vibrions sous l'influence du sérum anticholérique bien frais. Si le sérum n'est pas frais ou s'il est chauffé à 60°, le phénomène ne se produit plus : on le remet en évidence par l'addition du sérum normal.

Il résulte donc de ces travaux que dans le sérum bactéricide spécifique soumis à 60°, une substance essentielle à été détruite et

qu'elle existe dans le sérum normal : c'est l'alexine ou complément.

La dissolution extracellulaire des bactéries dépend donc de la présence de deux substances : la première, l'alexine de Buchner ou complément d'Ehrlich, est la véritable substance dissolvante : elle se trouve dans tous les sérums (normaux et spécifiques). Mais elle ne peut agir par elle-même et son action dissolvante ne s'exerce que par l'intermédiaire d'un trait d'union, qui est la substance résistante des sérums (fixateur de Metchnikoff ou ambocepteur d'Ehrlich).

Ces principes fondamentaux étant posés, il nous reste à envisager brièvement le mécanisme de la bactériolyse et de l'immunité acquise contre les microbes d'après la théorie cellulaire de Metchnikoff, d'une part, et d'après la théorie chimique des récepteurs d'Ehrlich, d'autre part.

Bordet a opposé à la théorie d'Ehrlich une explication des phénomènes de l'immunité, qui se rapproche de la théorie cellulaire et dans laquelle la substance spécifique agit comme une « sensibilisatrice » qui imprègne le microbe pour permettre l'action de l'alexine.

Nous verrons que la théorie cellulaire et la théorie chimique semblent devoir se confondre bientôt et qu'il est probable qu'à l'avenir on se formera, de tous ces phénomènes, une opi-

nion moyenne, qui sera la vérité entre les théories extrêmes Pour terminer ce chapitre, nous étudierons les caractères principaux des agglutinines et des précipitines.

A. *Théorie cellulaire de l'immunité :*

Les fixateurs et les alexines.

Metchnikoff a réduit le phénomène de la dissolution extracellulaire à ses justes proportions, alors que Pfeiffer avait voulu faire jouer à la bactériolyse un rôle trop prépondérant dans l'immunité. D'après cette théorie, la destruction des microbes dans l'organisme vivant, se produit surtout lorsque les phagocytes ont laissé échapper leurs alexines (microcytases), ce qui a lieu pendant la période de phagolyse ou de destruction leucocytaire, au début de l'infection.

On voit que pour Metchnikoff, l'origine leucocytaire de la substance importante, qui seule possède l'action dissolvante, ne peut faire de doute. Quant à la substance spécifique, qu'il appelle fixateur, elle est répandue dans les liquides de l'organisme et probablement sécrétée dans les organes hématopoïétiques (rate, moelle osseuse et ganglions lymphatiques), ainsi que le montrent les expériences de Wassermann et de plusieurs auteurs.

Tout en admettant certains phénomènes de destruction extra-cellulaire, Metchnikoff consi-

dère la réaction phagocytaire comme de première importance dans l'immunité acquise aussi bien que dans la résistance naturelle.

Rôle des phagocytes.

L'immunisation aurait pour effet d'activer notablement la phagocytose, dont nous avons vu l'importance au chapitre précédent. L'auteur a même observé que les leucocytes possèdent une chimiotaxie positive beaucoup plus accusée, et que leur faculté de digérer les microbes augmente notablement au cours de l'immunisation. La surproduction des substances spécifiques et leur dissolution dans le sang sont la conséquence de cette exaltation de la phagocytose.

Nous voyons donc que, d'après la théorie cellulaire de l'immunité acquise, les phénomènes observés sont identiques à ceux de la résistance naturelle et ne représentent qu'un cas particulier de la résorption des cellules. Dans ce dernier cas, lorsqu'il ne s'agit plus de microbes, mais de cellules plus grandes, ce sont les macrocytases qui entrent en jeu au lieu des microcytases. Les autres phénomènes sont identiques.

B. *Théorie des récepteurs.* — Ehrlich a appliqué à l'immunité contre les microbes sa théorie géniale des chaînes latérales du protoplasma ou théorie des récepteurs, qui avait été

conçue d'abord pour expliquer le mécanisme de l'immunité acquise contre les toxines.

Ehrlich a prouvé qu'il y a dans la bactériolyse une combinaison chimique entre trois corps en présence : le microbe, le complément et l'ambocepteur. Toutes les expériences ultérieures ont pu confirmer ces idées et nous pouvons considérer actuellement la théorie des récepteurs comme rendant le mieux compte de la plupart des phénomènes compliqués de l'immunité acquise spécifique.

Les récepteurs cellulaires.

A un point de vue général, on appelle récepteur tout groupement atomique du protoplasma vivant possédant la faculté de se combiner à un groupement atomique étranger, par exemple les toxines bactériennes, les produits de destruction des corps microbiens, etc. La molécule complexe des substances albuminoïdes renferme, en dehors du noyau central, une certaine quantité de chaînes latérales (récepteurs) qui servent à la nutrition des cellules et possèdent une affinité très grande pour les substances alimentaires et pour certains poisons.

Ehrlich part donc du principe que les microbes ou leurs produits toxiques se combinent à certains récepteurs des cellules et qu'une fois ces récepteurs combinés, ceux-ci deviennent inutiles pour la nutrition de la cellule : ils

doivent dès lors être rejetés. Il s'ensuit un déficit dans l'équilibre de la cellule. Celle-ci reproduit un nouveau récepteur en remplacement de celui qui a disparu. Le but de l'immunisation est précisément d'entraîner la cellule à reproduire ces récepteurs en excès : ceux-ci passent dans le sang où ils représentent soit les antitoxines (immunisation par les toxines), soit les ambocepteurs spécifiques (immunisation avec les corps microbiens).

La théorie des récepteurs compte aujourd'hui de très nombreux partisans ; c'est elle, en effet, qui semble le mieux s'adapter à tous les faits connus de l'immunité. Behring a adopté cette manière de voir et a résumé l'ensemble de la théorie par ces mots : « Ehrlich a montré que la substance qui produit la maladie, lorsqu'elle se trouve ancrée à la cellule, devient au contraire une cause de guérison lorsqu'elle est mise en liberté dans le sang. »

Nous avons à considérer maintenant les deux substances qui donnent à un sérum ses propriétés bactériolytiques spécifiques. Ce sont les ambocepteurs d'une part, et, d'autre part, les alexines ou compléments.

Ehrlich a trouvé trois espèces de récepteurs cellulaires : 1° les unicepteurs simples ou antitoxines qui ont le pouvoir de fixer la toxine;

2° les unicepteurs de second ordre ou agglutinines, dont nous verrons ultérieurement les propriétés, et 3° les ambocepteurs, qui sont les récepteurs les plus compliqués et qui représentent les véritables substances spécifiques.

Les ambocepteurs.

Les ambocepteurs possèdent deux groupements haptophores : l'un se combine au récepteur du microbe à détruire, l'autre se combine aux alexines ou compléments. Cette fonction de trait d'union entre le corps à dissoudre et la substance dissolvante leur a fait donner le nom de corps intermédiaire *(Zwischenkörper)*, qui a été remplacé par celui d'ambocepteur, afin de bien montrer leur double rôle fixateur.

Les sérums normaux renferment tous des ambocepteurs ainsi qu'Ehrlich l'a prouvé pour les hémolysines.

Antiambocepteurs.

Inoculés à des animaux, les ambocepteurs produisent des anticorps, des anti-ambocepteurs, qui sont dirigés aussi bien contre le groupement bactériophile que contre le groupement complémentophile de l'ambocepteur qui a servi aux injections. L'inoculation des antitoxines ne donne pas d'anticorps.

Les ambocepteurs sont donc formés, d'une part d'un groupement haptophore bien spécifique et qui se fixe à la bactérie, d'autre part de

nombreux groupements complémentophiles qui sont loin d'avoir chacun la même avidité pour les différents compléments du sérum. Cette avidité peut d'ailleurs être modifiée après la combinaison du groupement haptophore avec les bactéries correspondantes : à chaque ambocepteur correspond une variété de complément (complément dominant) qui agit mieux que les autres et qui exerce son action dissolvante.

A côté de l'ambocepteur, il y a lieu de considérer l'action des compléments.

Compléments ou alexines.

Ces corps, auxquels est dévolu le rôle bactéricide proprement dit, possèdent un groupement haptophore qui fixe l'ambocepteur et un groupement dissolvant ou zymotoxique : ils ressemblent donc par leur constitution aux toxines qui, nous l'avons vu précédemment, renferment également deux groupements atomiques (toxophore et haptophore). Chauffés à 55°, les compléments ne perdent que leur pouvoir dissolvant ou zymotoxique; le groupement haptophore reste et on les appelle alors complémentoïdes par analogie avec les toxoïdes.

Ehrlich n'admet pas l'unité des compléments; ses expériences très concluantes ont montré la multiplicité des compléments dans tous les sérums normaux et spécifiques. Il a rejeté pour cette raison le terme « alexine » qui est trop

unitaire. Nous avons déjà vu les principales propriétés des compléments au chapitre de la résistance naturelle. Nous avons vu qu'ils existent dans tous les sérums frais, normaux ou spécifiques et que leur action zymotoxique ou dissolvante ne s'exerce que grâce à l'ambocepteur.

Anticompléments.

Inoculés aux animaux, les compléments donnent des anticompléments : ceux-ci ont le pouvoir de se combiner au groupement haptophore du complément qui leur a donné naissance.

D'après ce que nous avons vu, la théorie cellulaire de l'immunité s'accorde très bien avec la théorie des récepteurs. Des deux côtés, on est d'accord pour admettre que la destruction des microbes se fait par l'intermédiaire de *deux* substances, l'une qui possède le pouvoir dissolvant et qui ne peut agir par elle-même ; l'autre qui sert de trait d'union entre la bactérie à dissoudre et l'enzyme dissolvante.

La principale différence entre les deux théories, c'est que l'une, la théorie cellulaire, n'admet pas la présence des compléments dans le sang circulant, tandis que l'autre, la théorie d'Ehrlich, considère les compléments comme largement répandus dans toutes les humeurs de l'organisme. Si, comme tout le fait prévoir, la théorie d'Ehrlich est exacte, si les compléments

sont multiples et répandus dans le sang, on comprend que les expériences *in vitro* et les phénomènes vitaux de l'immunité doivent se rapprocher beaucoup. Dans ce cas, la bactériolyse ou destruction extra-cellulaire des bactéries représenterait le moyen le plus important de résistance aux infections.

Si au contraire les alexines ne sont pas libres, et sont mises seulement occasionnellement en liberté par la destruction des globules blancs, alors les phénomènes bactériolytiques passent au second plan comme importance, et les phénomènes digestifs intracellulaires prennent la place prépondérante.

Conclusions.

En un mot, on est d'accord sur les forces en présence (ambocepteur et complément) (fixateur et alexine) et leur importance réciproque est reconnue par tous. Il y a doute au sujet de l'endroit où ces forces agissent : dans les cellules ou hors des cellules.

D'après ce que nous savons de l'immunité naturelle où la phagocytose joue un rôle si important, nous croyons que la vérité se trouvera entre ces opinions extrêmes. Les phénomènes de l'immunité sont trop complexes et trop variables pour permettre une conception unitaire.

Les phénomènes de digestion intracellulaire

doivent occuper une place aussi importante dans l'immunité spécifique que dans la résistance naturelle ; il est incontestable d'autre part, qu'au cours de l'immunité, les phénomènes de dissolution hors des cellules interviennent largement et facilitent dans une grande mesure l'action plus générale de la phagocytose.

C. *Applications de ces expériences à la sérothérapie.*

Nous avons vu qu'on connaît aujourd'hui un grand nombre de sérums bactéricides nettement spécifiques. Il semblait logique d'admettre que ces sérums pourraient servir à traiter avec succès toutes les maladies infectieuses, puisqu'il s'agit en somme de détruire des microbes et que la meilleure méthode de supprimer leur action nocive serait de les dissoudre au moyen d'une substance active, spécifique et inoffensive pour l'organisme humain.

Insuccès de la sérothérapie.

Les premiers essais d'application de la sérothérapie bactéricide au traitement des maladies infectieuses n'ont pas été encourageants : on a injecté sans résultat de fortes doses de sérum anticholérique, de sérum antityphique, de sérum antistreptococcique etc.

A quelles causes faut-il attribuer ces insuccès?

Nous avons vu que les sérums bactéricides n'ont pas d'action antitoxique. On a cru pendant

tout un temps que leur inefficacité était due à cette particularité; nos connaissances théoriques ont fait assez de progrès pour que nous puissions expliquer le phénomène de la façon suivante :

Nous avons vu que pour guérir un organisme infecté, c'est-à-dire pour tuer les bactéries qu'il contient, la substance spécifique ou ambocepteur ne suffit pas. On peut en inoculer des doses massives : celles-ci n'auront aucun effet, si l'ambocepteur ne trouve pas dans l'organisme infecté, la véritable substance dissolvante, le complément qui détruit le microbe après y avoir été combiné par l'ambocepteur.

La question est donc celle-ci : trouver un ambocepteur spécifique qui convienne au complément humain.

Nous ne connaissons jusqu'ici qu'un seul ambocepteur spécifique qui se combine au complément humain : c'est l'ambocepteur de la dysenterie obtenu par inoculation du bacille de la dysenterie au cheval. Cet ambocepteur trouve dans l'organisme humain le complément nécessaire pour produire la bactériolyse. C'est le premier exemple cité et ce fait explique les bons résultats obtenus d'emblée au point de vue thérapeutique avec ce sérum qui n'est que bactéricide et nullement antitoxique.

On se rappelle que le sérum antityphique, qui est également bactéricide et non antitoxique, n'a aucune action ou du moins une action très faible sur l'évolution de la fièvre typhoïde : c'est parce que l'ambocepteur que nous obtenons chez la chèvre ou chez le cheval ne se combine pas au complément humain normal qui devrait alors produire la bactériolyse.

Wassermann était parvenu à amener la bactériolyse du typhus en additionnant les ambocepteurs spécifiques d'une certaine quantité de compléments provenant d'une autre espèce animale. Ces expériences n'ont pas donné les résultats pratiques qu'on en attendait.

Affinités réciproques.

On voit par ces exemples, que les relations d'avidité réciproque des trois substances en présence, le microbe, l'ambocepteur et le complément, devront à l'avenir être envisagées dans toutes les expériences ayant un but pratique et visant l'application de la sérothérapie au traitement des maladies infectieuses.

Des expériences anciennes nous avaient démontré que la présence de la substance spécifique dan les sang ne suffit pas pour guérir une infection. Il faut encore que cette substance ne s'y trouve pas en excès.

Les expériences de Pfeiffer sur le choléra (1895), de Löffler et Abel sur le bacterium coli (1896)

ont montré que les animaux infectés succombent aussi rapidement lorsqu'on leur injecte trop de sérum que lorsqu'ils reçoivent trop peu de sérum. Il y avait là une *dosis optima neutralisans* qui ne pouvait être dépassée et dont Neisser et Wechsberg ont retrouvé récemment la manifestation *in vitro*.

Avidités variables des ambocepteurs.

Nous savons que l'ambocepteur par lui-même n'est rien. Il doit fixer le complément au microbe. Si on introduit dans un organisme plus d'ambocepteur qu'il n'y a de complément, il peut se présenter plusieurs cas selon que cet ambocepteur voit son avidité pour le récepteur bactérien augmenter ou diminuer par la combinaison avec le complément. Si l'avidité est augmentée, l'excès d'ambocepteurs ne sera pas nuisible, puisqu'ils peuvent se combiner plus facilement aux microbes pour les détruire. Mais si l'avidité des ambocepteurs pour les microbes est diminuée, ils empêcheront l'action bactéricide des compléments de la façon suivante : le microbe peut être en contact avec deux types d'ambocepteurs, les uns libres et les autres combinés aux compléments. Ce dernier type d'ambocepteur ayant donc dans notre hypothèse une affinité moindre pour les microbes, ceux-ci se combineront évidemment avec les ambocepteurs libres non chargés de

compléments et dès lors la bactériolyse ne peut pas avoir lieu.

Dans les applications nouvelles de la sérothérapie à l'homme, il y a donc lieu de se préoccuper non seulement de la qualité de l'ambocepteur inoculé, mais aussi de sa quantité.

Nous avons tenu à insister sur le caractère éminemment pratique de toutes les recherches actuelles sur l'immunité, afin de bien montrer l'importance que ces expériences présentent pour l'avenir du traitement des maladies infectieuses

Agglutination.

D. *Agglutination des bactéries.*

Pour terminer l'étude du mode d'action des sérums bactéricides, il nous reste à passer en revue un des phénomènes les plus intéressants qu'on ait découvert dans ces dernières années et dont le rôle dans l'immunité est encore assez obscur : c'est l'*agglutination* des bactéries par les sérums spécifiques.

Si on mélange à une émulsion de vibrions cholériques, un peu de sérum spécifique, on voit en peu de temps des amas nombreux se former dans le liquide. Celui-ci primitivement troublé d'une façon bien homogène, se remplit de véritables grumeaux qui tombent au fond du tube.

Ce phénomène de l'agglutination a été vu primitivement par Charrin et Roger pour le bacille pyocyanique (1889).

Grüber a attiré l'attention sur l'importance de l'agglutination au point de vue de l'identification de certaines bactéries pathogènes, telles que le bacille d'Eberth et le vibrion du choléra.

Enfin Widal a démontré le pouvoir agglutinant du sang de malades atteints de fièvre typhoïde, même pendant la période d'infection, tout au début de la maladie (séro-diagnostic).

Le phénomène de l'agglutination est donc devenu le point de départ de deux découvertes importantes : le diagnostic différentiel de certaines bactéries pathogènes et la démonstration d'une fièvre typhoïde aux premiers jours de l'affection.

Le pouvoir agglutinant représente une propriété générale de tous les sérums bactéricides obtenus par l'immunisation au moyen des corps microbiens. — L'immunisation par les toxines ne donne aucune qualité agglutinante au sérum.

Les sérums normaux, bien frais, ont un certain pouvoir agglutinant vis-à-vis des microbes les plus divers, mais cette propriété est beaucoup moins développée que dans les sérums spéci-

fiques. Elle est cependant suffisante pour nécessiter l'emploi de méthodes quantitatives exactes lorsqu'il s'agit d'utiliser l'agglutination dans un but de diagnostic différentiel.

Le phénomène de l'agglutination a été beaucoup étudié dans ces derniers temps et on commence à bien connaître les conditions dans lesquelles il se produit. La réaction qui provoque l'agglutination d'une émulsion de microbes est semblable à la précipitation des sels doubles insolubles en chimie.

Deux phases dans l'agglutination.

Le phénomène comprend deux phases distinctes : dans la première, les agglutinines du sérum se combinent, grâce à leur affinité spéciale, aux substances agglutinables des microbes. Elles forment ainsi des corps nouveaux dont l'existence se manifestera ensuite par la précipitation des microbes en suspension. Cette précipitation est due à une combinaison chimique vraie, car on peut démontrer qu'elle se passe entre des quantités relatives, parfaitement déterminées, de substances, qu'elle est indépendante, quant au résultat final, de l'état de dilution ou de concentration des solutions et que le composé qui en résulte est un corps nouveau, doué de propriétés nouvelles qui ne rappellent en rien celles de ses constituants.

Dans la seconde phase, ou précipitation pro-

prement dite, la combinaison formée étant identique à un sel insoluble, se précipite rapidement.

Joos a démontré un fait de la plus grande importance : en l'absence de sels, les substances agglutinantes et agglutinables se combinent énergiquement, mais ne se précipitent pas. La présence de sels est nécessaire pour obtenir l'agglutination.

Ses expériences, toutes récentes, et dans le détail desquelles nous ne pouvons entrer ici, ont été confirmées par plusieurs auteurs.

Elles démontrent l'existence d'une combinaison très stable entre le microbe et l'agglutinine, combinaison résistant à des lavages prolongés. Il en résulte, que si on inocule des microbes agglutinés à des animaux, leur sérum ne renferme jamais d'agglutinines. Les bacilles agglutinés, c'est-à-dire ayant leurs récepteurs saturés par l'agglutinine, ne peuvent plus agir sur les cellules de l'organisme vivant et ne peuvent se combiner aux récepteurs spécifiques de ces cellules. Dès lors, la mise en liberté de ces récepteurs et leur surproduction ultérieure ne peuvent avoir lieu.

Joos a encore montré que l'agglutinine est en réalité formée par un mélange de différentes substances : deux d'entre elles, jouissant de pro-

priétés spéciales, peuvent être mises en évidence dans tous les sérums agglutinants. Elles correspondent chacune à des substances différentes du corps même du microbe : celui-ci renferme une substance se détruisant rapidement à 60°, tandis que l'autre résiste à cette température; elles produisent l'une et l'autre des anticorps différents.

D'après certains auteurs, le chauffage d'un sérum agglutinant transformerait l'agglutinine en *agglutinoïde ;* celle-ci ne serait plus capable que de se combiner aux microbes, de réaliser la première phase de l'agglutination; comme dans les toxoïdes, le groupement haptophore, est conservé, donc le pouvoir fixateur seul reste intact. La substance instable qui provoque la précipitation ayant disparu, celle-ci n'est pas provoquée et les microbes restent en suspension.

E. *Les précipitines.*

Nous avons vu précédemment que les sérums bactéricides renferment des ambocepteurs spécifiques, des agglutinines et des précipitines.

Nous avons étudié les deux premiers corps; il nous reste à définir en quelques mots les précipitines.

Kraus a trouvé en 1897 que le sérum des animaux immunisés donne un précipité dans les solutions filtrées sur bougie des substances

Les précipités spécifiques.

ayant servi à l'immunisation. Ce savant a obtenu dans les cultures filtrées de divers microbes, tels que choléra, peste, typhus, etc., un précipité spécifique qui se forme lorsqu'on ajoute des quantités assez considérables de sérum bactéricide spécifique. Kraus considérait ce précipité comme renfermant la substance agglutinable dissoute.

On a trouvé ensuite que les animaux injectés avec des solutions albuminoïdes possèdent dans leur sérum des anticorps capables de précipiter l'albumine qui a servi à l'expérience.

Tchistowitch et Bordet ont montré que si on injecte à un animal *A* une albumine, du sérum d'un animal *B* par exemple, on voit apparaître bientôt dans le sérum de *A* un corps qui précipite *in vitro* l'albumine *B*.

Cette réaction ne peut être utilisée qu'avec les plus grandes précautions, car nous savons aujourd'hui que le sang des singes, par exemple, donne la même réaction que le sang humain.

Wassermann ayant proposé en 1900 d'introduire ce procédé dans la pratique pour la différenciation des albumines, pour distinguer notamment l'albumine humaine de l'albumine animale, on a dû reconnaître que la réaction n'est pas absolument spécifique, et qu'elle est

positive pour les mêmes variétés d'albumines provenant d'espèces animales distinctes.

Quoi qu'il en soit, l'étude des précipitines, tout en n'ayant pas donné les résultats pratiques qu'on en attendait, est intéressante à plus d'un titre.

Rôle des agglutinines et des précipitines dans l'immunité :

Nous avons vu plus haut que l'action bactériolytique d'un sérum est due à l'action combinée du complément et de l'ambocepteur spécifique. Mais on trouve encore dans tous les sérums bactéricides d'autres substances spécifiques, notamment des agglutinines et des précipitines.

D'après la théorie d'Ehrlich, ces deux corps ont une constitution chimique plus simple que celle des ambocepteurs : ils représentent les unicepteurs de second ordre. On se rappelle que les antitoxines forment le groupe des unicepteurs de premier ordre ; ce sont les récepteurs cellulaires les plus simples, mis en liberté au cours de l'immunisation et ne possédant qu'un groupement haptophore pour la toxine; les agglutinines ou récepteurs de second ordre possèdent déjà deux groupements atomiques : le groupement haptophore et le groupement zymophore; le premier fixant la substance aggluti-

nable, le second produisant la réaction précipitante.

Il n'est pas douteux, malgré cette théorie si ingénieuse et qui est confirmée tous les jours par l'expérience, que les agglutinines se rapprochent beaucoup des ambocepteurs. Nous inclinons à penser qu'on démontrera un jour leur identité : on pourrait parfaitement admettre, puisque tous les sérums bactéricides sont agglutinants, que l'agglutination n'est que la première phase de la bactériolyse et que les ambocepteurs spécifiques et les agglutinines ne forment qu'un seul et même corps se fixant aux microbes et facilitant la destruction de ces cellules par les compléments.

4° *L'immunité acquise contre les toxines* :

La découverte du pouvoir antitoxique du sang des animaux immunisés avec une toxine microbienne date de 1890. Behring et Kitasato avaient conclu de leurs expériences que « l'immunité des lapins et des souris contre le tétanos dépendait du pouvoir de leur sérum de rendre inoffensives les substances toxiques sécrétées par ces bacilles »

Après ce travail fondamental, Ehrlich a découvert la possibilité d'immuniser les animaux contre certains poisons végétaux, tels que l'abrine et la ricine; il démontra l'existence d'an-

titoxines spécifiques dans le sérum des vaccinés.

Ces expériences permirent à Calmette d'immuniser contre les venins des serpents et de produire un sérum thérapeutique contre les morsures venimeuses.

Lorsqu'on injecte à un animal des doses croissantes d'une toxine, on constate la formation dans son sang de corps nouveaux possédant la propriété de neutraliser cette toxine : ces substances sont les antitoxines qui, inoculées à d'autres animaux, ont le pouvoir de les préserver contre l'intoxication et de les guérir lorsque l'intoxication est déjà établie.

Antitoxines.

Behring et Kitasato avaient pensé primitivement que les toxines étaient détruites par l'antitoxine. Ils avaient admis dès le début que le rôle de l'organisme dans la guérison des intoxications est tout à fait passif.

Les expériences de Buchner, de Roux et Vaillard sont venues démontrer au contraire que la toxine n'est pas détruite : en effet, un mélange de toxine et d'antitoxine neutre pour certains animaux peut être mortel pour d'autres espèces plus sensibles.

Ces notions élémentaires sur le mode d'action des antitoxines ont subi de grandes modifications grâce aux travaux d'Ehrlich, qui a démontré qu'il y a combinaison chimique entre la

Leur mode d'action.

toxine et son antitoxine et que cette combinaison se fait toujours suivant la loi des équivalents : en effet, lorsque deux substances s'unissent pour en former une troisième, elles se combinent dans des rapports constants d'équivalence. Seulement, ces rapports schématiques ne se démontrent pas facilement dans les combinaisons de toxines et d'antitoxines parce que, comme l'a nettement montré Ehrlich, la toxine est une substance très instable et d'une composition très complexe.

C'est à la suite de ses beaux travaux sur les poisons végétaux, que ce savant a pu démontrer expérimentalement que la toxine et l'antitoxine s'influencent réciproquement et chimiquement.

En étudiant les méthodes d'essais des sérums thérapeutiques, Ehrlich fut amené à faire une longue série d'expériences sur la constitution du poison diphtérique. Ces recherches délicates lui permirent de démontrer que la propriété que possèdent les toxines de se combiner aux antitoxines doit dépendre d'un groupement atomique spécifique du poison qui possède une affinité très grande pour un groupement atomique de l'antitoxine et s'y combine. De là l'origine de la théorie des récepteurs dont nous avons étudié déjà les principes généraux.

Nous avons vu antérieurement que la molé-

cule de toxine renferme deux groupements atomiques différents, le groupement haptophore et le groupement toxophore. Au premier est dévolu le pouvoir de combinaison de la toxine à l'antitoxine, c'est-à-dire à la chaîne latérale du protoplasma mise en liberté par l'immunisation. Le groupement toxophore possède le pouvoir toxique spécifique proprement dit

Nous savons que le groupement haptophore résiste à la chaleur et que le groupement toxophore est très instable. On voit donc que les solutions de toxines peuvent perdre très facilement leur propriété toxique proprement dite et conserver néanmoins leur pouvoir de combinaison spécifique avec l'antitoxine.

Les toxoïdes.

Ainsi s'explique la transformation des toxines en toxoïdes qui ne possèdent plus que le groupement haptophore, le groupement toxophore ayant complètement disparu.

Nous avons vu que le groupement haptophore de la toxine se combine seul à la cellule pour produire l'intoxication en permettant l'action du groupe toxophore; de même lorsqu'on mélange la toxine et l'antitoxine, ce groupement haptophore se combine seul à l'antitoxine.

La combinaison chimique entre la toxine et l'antitoxine est généralement admise. Metchnikoff pense qu'il n'y a pas seulement combinai-

son entre ces deux corps, mais par analogie avec le mode d'action de la substance spécifique des sérums bactéricides, il admet l'intervention des leucocytes aussi bien pour détruire les toxines que pour digérer les microbes.

D'après les expériences de Wassermann, l'intervention des alexines ou compléments dans la neutralisation des toxines est peu probable, car en empêchant leur action par l'antialexine, on obtient les mêmes effets de neutralisation.

En résumé, il semble qu'on puisse considérer l'action de l'antitoxine sur la toxine comme une combinaison chimique de deux corps sans intervention des cellules vivantes. Combinaison chimique.

Le problème de l'origine des antitoxines, si intéressant au point de vue pratique, est loin d'être résolu actuellement.

L'ancienne théorie de la transformation directe des toxines en antitoxines dans le corps de l'animal immunisé avait réuni beaucoup de partisans.

Ehrlich a combattu cette théorie et a envisagé les principales objections contre cette manière d'expliquer l'origine des antitoxines. Nous savons qu'il existe une différence quantitative très grande entre la toxine inoculée aux animaux et la quantité d'antitoxine produite : d'après Knorr l'équivalent de toxine donnerait Origine des antitoxines.

100,000 équivalents d'antitoxine pour le tétanos. De plus, la régénération des antitoxines, notamment après les fortes saignées, a été démontrée depuis longtemps. (Roux-Vaillard.) Nous savons encore que l'organisme normal peut produire des antitoxines, sans l'intervention de poisons bactériens. — Tous ces faits qui plaident contre la transformation des toxines en antitoxines sont corroborés par les recherches cliniques de Wassermann, qui a trouvé dans le sang humain des antitoxines normales neutralisant la toxine diphtérique. Il s'ensuit que les antitoxines seraient des produits de l'activité cellulaire normale.

Théorie d'Ehrlich.

La théorie des récepteurs, dont nous avons résumé plus haut les points les plus importants a éclairci notablement le problème de l'origine des antitoxines. Nous savons depuis les expériences d'Ehrlich que le groupement haptophore de la molécule de toxine entre en combinaison avec un récepteur cellulaire pour produire l'intoxication. Il s'ensuit une maladie de la cellule, se traduisant par une lésion dans la fonction. Cette lésion est suivie de régénération.

Le récepteur qui a fixé le groupe haptophore de la toxine est devenu inutile pour la cellule et ne peut plus remplir sa fonction normale qui est

de servir à la nutrition de cette cellule en fixant ses aliments. Dès lors ce récepteur inutile est expulsé dans le plasma et sa mise en liberté est bientôt suivie de la régénération de récepteurs semblables. Cette surproduction des récepteurs correspond à la diffusion dans le sang des antitoxines spécifiques.

L'existence de récepteurs toxinophiles dans les cellules est démontrée par de multiples expériences. La faculté d'amener la production d'antitoxines n'appartient qu'à certains poisons produits par les cellules vivantes : tous les poisons chimiquement définis n'en donnent pas. D'après Ehrlich, seules les substances pouvant se combiner aux récepteurs peuvent donner des antitoxines.

On peut produire des antitoxines sans intoxication préalable. En effet, lorsque le groupe haptophore est seul conservé (toxoïdes), il se combine aux récepteurs sans exercer d'action toxique, et pourra contribuer à la formation d'antitoxines : c'est ce qui se passe pour le tétanos et la diphtérie. (Madsen.)

Quelles sont donc les conditions requises pour obtenir une antitoxine spécifique?

Il faut d'abord obtenir une toxine soluble dans les bouillons de culture. En second lieu, il faut que cette toxine se combine à certains

récepteurs cellulaires. Il faut enfin que cette action soit assez limitée pour ne pas produire la mort de la cellule, ce qui supprimerait évidemment la régénération des récepteurs. D'après ce qui précède, on voit donc que la théorie d'Ehrlich a beaucoup éclairci le problème de l'origine des antitoxines.

Théorie cellulaire.

Metchnikoff admet l'influence des phagocytes pour expliquer l'immunité contre les toxines. Il pense que ce sont les macrophages qui produisent les antitoxines. D'après ce savant, il serait possible d'obtenir un sérum antitoxique, même avec des corps microbiens et sans toxine soluble, à condition d'avoir une réaction macrophagique (peste bubonique). Metchnikoff invoque à l'appui de sa théorie le fait expérimental suivant : le caïman produit rapidement des antitoxines grâce à son système leucocytaire qui n'est composé que de leucocytes éosinophiles peu phagocytaires et de macrophages.

On peut objecter à cette théorie cellulaire, qu'il est dès à présent bien établi que des cellules autres que les leucocytes peuvent fixer les toxines : notamment les cellules nerveuses.

Quoi qu'il en soit, l'immunité contre les toxines doit être encore beaucoup étudiée et la

question intéressante de l'origine des antitoxines est loin d'être résolue actuellement : le problème est surtout difficile à éclaircir, parce que nous ne possédons aucun autre réactif des toxines que le corps de l'animal vivant. Espérons que la chimie biologique entreprendra bientôt l'étude systématique des poisons microbiens qui permettra de jeter quelque lumière sur la production et le mode d'action des antitoxines dans l'organisme.

CHAPITRE XI

Les Résultats pratiques de l'immunité.

Il nous a paru utile de faire suivre ce résumé des phénomènes de l'immunité, d'un exposé rapide des résultats pratiques auxquels ont conduit jusqu'ici ces études expérimentales, en nous cantonnant exclusivement dans la pathologie humaine, car l'art vétérinaire a bénéficié aussi largement des découvertes récentes dans ce domaine de la bactériologie.

Il importe de considérer à part l'immunité active et l'immunité passive.

L'immunité active, employée surtout comme méthode préventive, a donné jusqu'ici la vaccination jennérienne, la vaccination anticholéri-

que, la vaccination antityphique et la vaccination préventive contre la peste. Comme méthode curative, elle a pu être appliquée avec succès au traitement de la rage humaine. Mais la sérothérapie, c'est-à-dire l'immunité passive, constitue la véritable méthode thérapeutique de l'avenir. En fait de sérums actifs, nous ne connaissons jusqu'ici que le sérum antidiphtérique, le sérum antitétanique et le sérum antivenimeux.

1° *Vaccination contre la variole :*

La variole a exercé ses ravages depuis la plus haute antiquité. Les grandes villes d'Europe ont été fortement éprouvées au XVIII[e] siècle; de 1750 à 1800, la variole fit à Londres plus de 100,000 victimes.

Lady Montague avait introduit la variolisation en Angleterre en 1721.

Vaccination Jennérienne.

C'est en 1798 que Jenner découvrit le principe de la vaccination et qu'il observa que l'inoculation du virus vaccinal provenant de la vache ou du cheval provoque chez l'homme une maladie bénigne dont l'évolution a pour effet de rendre l'organisme réfractaire aux atteintes de la variole.

Nous avons décrit en 1901 un protozoaire retrouvé constamment dans les pustules varioliques sous trois formes distinctes (corps ami-

boïdes simples, formes intracellulaires, éléments enkystés) (1).

Étiologie de la variole.

Nos recherches ont été confirmées par plusieurs auteurs:

Ishigami, directeur de l'Institut impérial vaccinogène du Japon, a publié en juin 1902 un travail fait sous la direction du professeur Kitasato; il confirme toutes nos conclusions et déclare que la variole est due à un protozoaire se reproduisant tantôt par division directe, tantôt par sporulation après enkystement.

L'auteur a retrouvé un parasite analogue dans la vaccine et arrive à cette conclusion, déjà formulée par nous en 1901, que la variole et la vaccine sont produites par le même parasite.

Dombrowski, de Varsovie, a retrouvé également la forme sporulée du parasite de la variole. Il confirme un fait, que nous avons signalé en premier lieu, à savoir la disparition du parasite dans les préparations de pus variolique, fixées et colorées par les méthodes habituelles. Le parasite a été retrouvé dans le sang fraîchement recueilli de personnes atteintes de variole.

Lorsque le professeur Laveran mit en évi-

(1) Pour les détails, voir notre travail original dans le *Centralblatt für Bakteriologie, Band* 29, p. 921, avec planches lithographiques.

dence l'hématozoaire de la malaria en 1880, sa découverte fut combattue partout et il lui a fallu sept années pour convaincre ses contradicteurs; il s'agissait cependant là d'un parasite facilement décelable dans le sang de tous les paludéens; dans la variole, nous nous trouvons dans des conditions beaucoup moins favorables pour fournir la preuve de la spécificité. Actuellement, nous ne pouvons nous baser que sur les trois caractères suivants : 1° le parasite se retrouve constamment sous l'une de ses formes dans tous les cas de variole examinés; 2° il ne se retrouve que dans les pustules varioliques et vaccinales ; 3° transporté au veau, en émulsions bactériologiquement stériles, il donne des pustules absolument caractéristiques.

État actuel du problème.

Il est probable, d'après ce qui précède, que la variole et la vaccine sont deux affections identiques.

La variole inoculée au veau se transforme en vaccine au bout de quelques passages.

L'inoculation variolique a pour effet de préserver ces animaux contre une atteinte ultérieure de vaccine.

On n'a pas encore réussi à transformer la vaccine en variole; on n'a obtenu dans les circonstances les plus favorables qu'une variole

mitigée, une espèce de varioloïde. (Millard, Galli-Valerio, Marchoux.)

En Belgique, l'organisation administrative de la vaccination laisse fort à désirer : si la vaccination était obligatoire comme en Allemagne, la variole aurait disparu depuis longtemps de notre pays. On y constate parfois encore des épidémies assez graves : à Ostende, en 1889, sur 25,000 habitants, on a compté 440 décès.

Vaccination obligatoire.

Alors que dans les pays où la vaccination est obligatoire, comme en Allemagne, la variole est presque inconnue, on compte pendant une période de quatre ans (1889-1893) : en France 148 décès, pour un million d'habitants ; en Belgique 253 décès, en Autriche 313 décès, et en Russie 836 décès pour le même nombre d'habitants !

Ces statistiques se passent de commentaires, et démontrent que seule, la vaccination obligatoire est capable de supprimer cette affection meurtrière de nos contrées.

2° *Vaccinations préventives contre le choléra* : Les premiers essais datent de 1885 : Ferran a pratiqué des inoculations en Espagne sur 25,000 personnes. Ces expériences ont été reprises en 1894, par Haffkine, qui a inoculé aux Indes 42,000 personnes.

Procédé Haffkine.

On pratique deux injections à cinq jours d'intervalle. Le premier vaccin est une culture de choléra déposée à l'étuve à 39°, afin de diminuer la virulence du bacille.

Le deuxième vaccin provient d'une culture virulente.

Les résultats obtenus aux Indes sont très intéressants :

Dans un quartier de Calcutta, par exemple, sur 321 habitants, 181 personnes inoculées ont eu quatre fois le choléra. Parmi les autres, on constate 45 cas de maladie et 30 morts. On voit donc, grâce aux inoculations, la mortalité générale dans les épidémies, tomber de 10 p.c. à 1 p.c.

Nous devons attacher une grande importance, au point de vue européen, à cette tentative qui consiste à attaquer le choléra dans son propre foyer hindou et à essayer de le déraciner de ces pays orientaux qui ont toujours été le point de départ de toutes les grandes épidémies qui se sont abattues en Europe.

Haffkine a essayé les mêmes inoculations pour la peste et pour la fièvre typhoïde.

Inoculation contre la peste.

3° *Vaccinations préventives contre la peste* : On a employé aux Indes les mêmes procédés que ceux qui avaient servis antérieurement pour le choléra.

Pour préparer le vaccin, on chauffe des cul-

tures en bouillon à 65° ou 70° après 40 jours de culture.

L'inoculation à l'homme se fait par doses de 3 grammes.

A la suite des injections, on constate un peu de fièvre et une tuméfaction localisée à l'endroit de l'inoculation.

Les premiers résultats sont considérés comme très satisfaisants : sur 8,000 personnes exposées à la contagion, 2,177 ont pu être inoculées. — Parmi celle-ci, 36 sont mortes, soit 1,6 p. c., alors que 1,482 cas mortels se sont produits parmi les non inoculés, soit 24.6 p. c.

Les inoculations du sérum antipesteux à titre préventif ont été étudiées à Glascow par Van Ermengem : Sur 70 personnes inoculées deux seulement ont contracté la maladie et ont d'ailleurs guéri.

Vaccination anti-typhique

4° *Vaccinations préventives contre la fièvre typhoïde* :

A la suite des expériences de Pfeiffer et Kolle, démontrant l'existence très nette d'anticorps spécifiques dans le sang des personnes inoculées sous la peau avec des bacilles typhiques tués par la chaleur, on a étudié l'effet de ces inoculations préventives dans plusieurs pays.

En Angleterre, Wright prépare un vaccin au moyen d'une culture de bacille typhique en

bouillon peptonisé, chauffée à une température de 60° après trois semaines de séjour à l'étuve. La dose d'inoculation est de 1 gramme.

Les résultats paraissent encourageants : pendant le siège de Ladysmith, on a constaté huit fois moins de cas de fièvre typhoïde chez les vaccinés que chez les non-vaccinés.

5° *Vaccinations antirabiques* :

Les immunisations actives que nous avons considérées jusqu'ici ont un but préventif. Nous connaissons depuis 1881, grâce aux travaux de Pasteur, un procédé d'immunisation active, appliqué à la guérison d'une maladie infectieuse : c'est le traitement antirabique.

La rage est une affection qui atteint surtout le chien (92 p. c.), quelquefois le chat (6 p. c.) parfois même les herbivores. Elle se transmet expérimentalement, par inoculation sous la dure-mère, d'une parcelle de bulbe rachidien d'un animal atteint de rage. La rage.

Inoculée à l'homme par morsure, la rage présente une période d'incubation minima de vingt à trente jours. On s'efforce par le traitement de Pasteur, d'immuniser rapidement le malade entre le moment de l'inoculation du virus et l'apparition des premiers symptômes de la maladie.

Pasteur a démontré que le virus rabique, transporté par inoculation de lapins en lapins,

arrivait à un maximum de virulence en produisant des symptômes mortels après une période constante d'incubation ne dépassant pas six jours : c'est là le virus fixe.

Découverte de Pasteur.

Pasteur a découvert en 1884 ce fait important que l'inoculation sous-cutanée au chien de moelles de plus en plus virulentes procure l'immunité contre l'inoculation ultérieure de produits très actifs et mortels pour les animaux témoins. Afin de rendre cette découverte pratique et pour l'appliquer au traitement de la rage humaine, Pasteur a réussi à diminuer la virulence des moelles rabiques par la dessiccation : cette dessiccation, prolongée jusqu'au quinzième jour, donne des moelles de moins en moins virulentes, avec lesquelles on débute dans le traitement.

On arrive ainsi petit à petit, après deux ou trois semaines d'inoculations répétées souvent plusieurs fois par jour, à faire supporter au malade l'injection du virus fixe le plus actif. Quand on atteint ce moment, le malade peut être considéré comme guéri.

Résultats.

Les inoculations antirabiques ont fait tomber la mortalité de la rage humaine de 16 p. c. à 0,4 p. c. environ.

Sur 25,000 personnes traitées à Paris de 1886 à 1900, 107 seulement ont succombé à la maladie, soit 0.43 p. c.

A Berlin, Marx a publié une statistique très encourageante avec une mortalité de 0.26 p. c. sur 384 personnes inoculées.

Les inoculations, d'après la méthode de Pasteur, se font de la façon suivante :

On commence le traitement avec des moelles de quinze jours, ayant donc perdu toute virulence. Un morceau de moelle d'un demi-centimètre est broyé dans du bouillon de veau et l'émulsion est inoculée à la dose de 3 c. c. sous la peau du flanc. Une seconde injection est pratiquée le même jour avec une moelle de treize jours.

Une autre méthode consiste à diluer simplement le virus fixe au lieu de le dessécher. On commence alors par les dilutions à 1 : 10,000 et on doit arriver à 1 : 200. Högyes prétend que le dosage du virus se fait mieux de cette façon et que le traitement reussit plus souvent que par la méthode classique de Pasteur.

Diphtérie.

6° *Vaccinations préventives contre la diphtérie* :

Les injections préventives de sérum antidiphtérique pratiquées dans le but de protéger l'entourage d'un malade atteint de croup ou pour éviter une épidémie, ont donné d'excellents résultats.

Leur emploi s'impose dans toutes les familles pauvres où un cas de diphtérie est constaté

et partout où les mesures d'hygiène et de prophylaxie sont illusoires

Netter a pu réunir une statistique de 34,350 inoculations préventives de sérum. Sur ce nombre, 206 enfants seulement ont eté atteints ultérieurement de diphtérie, soit 0.6 p. c. Ce résultat est splendide, car nous savons que la diphtérie se propage très facilement d'un enfant à l'autre dans une même famille. En effet, sur 100 cas, on a relevé 34 fois la transmission de la maladie aux frères et sœurs du malade; les examens bactériologiques répétés ont démontré très fréquemment la présence du bacille de Löffler dans la gorge des enfants qui sont en contact avec des diphtériques (157 fois sur 546 examens) : il est bien évident que ces diphtéries transmises peuvent être évitées par une simple inoculation préventive de sérum.

Une dose de 250 à 300 unités antitoxiques suffit en général pour préserver, à coup sûr, de la maladie. Elle représente généralement 1 1/2 à 2 c. c. de sérum.

L'injection doit être renouvelée au bout de trois semaines, si l'épidémie reste menaçante.

On a constaté unanimement que ces petites injections sont absolument inoffensives.

Il est inutile d'ajouter que l'emploi des injections préventives ne dispense, ni des mesures

de désinfection habituelles, ni de l'isolement rigoureux du malade.

7° *Vaccinations préventives dans quelques épizooties* :

a. *Clavelisation* : La clavelée du mouton est une affection très voisine de la variole humaine. Le virus est recueilli dans les pustules du claveau et est dilué dans dix fois son volume d'eau boratée à 2 p. c. Clavelée.

Le liquide est inoculé à la base de la queue du mouton. Cette méthode donne d'excellents résultats et est même obligatoire dans plusieurs pays.

b. *Peste bovine* : La peste bovine, dont l'agent étiologique n'est pas connu, produit dans certains pays des ravages terribles. La maladie a été beaucoup étudiée depuis 1897, époque à laquelle Koch fut envoyé en Afrique par le gouvernement anglais. Kolle et Turner ont trouvé un procédé de vaccination efficace qui consiste à inoculer d'une part du sérum spécifique et d'autre part une certaine quantité de sang virulent provenant d'un animal ayant succombé récemment. Les résultats obtenus jusqu'ici ont été très favorables. Peste bovine.

c. *Charbon* : Les vaccinations contre le charbon datent de 1880 et leur découverte fut le point de départ des grands travaux de Pasteur. Charbon.

On prépare en général deux vaccins atténués par une culture à 42° : le premier vaccin, cultivé à cette température pendant vingt-quatre jours, est encore assez virulent pour faire succomber des souris. Il est appliqué en premier lieu.

Le second vaccin, cultivé à la même température pendant douze jours, peut tuer des lapins. Il est inoculé en second lieu.

Charbon symptomatique.

d. *Charbon symptomatique* : Le virus se prépare de la même façon que le vaccin anticharbonneux : la méthode primitive des deux vaccins d'Arloing a été remplacée par la méthode de Kitt, dans laquelle on cultive le bacille à 84° pour affaiblir sa virulence.

Rouget.

e. *Rouget des porcs* : On se sert généralement dans cette maladie meurtrière d'un mélange de sérum spécifique et de vaccin : cette méthode (séro-vaccination de Leclainche) semble donner de bons résultats. La première inoculation est faite avec un mélange de sérum et de culture virulente; dix jours plus tard, on pratique une seconde inoculation d'un demi c. c. de virus pur. Les essais pratiqués sur 5,000 porcs paraissent avoir été concluants.

Immunité passive. Sérothérapie.

1° *La sérothérapie antidiphtérique* :

Ce qui a fait dès le début le succès de la sérothérapie antidiphtérique, c'est qu'elle était basée sur des résultats expérimentaux absolument rigoureux et concluants. Nous manquons malheureusement de renseignements précis sur l'origine et sur l'action intime des antitoxines, qui n'ont été obtenues jusqu'ici que dans la diphtérie et dans le tétanos.

Malgré le grand nombre d'inoculations de sérum qui ont été pratiquées dans tous les pays depuis neuf ans, les méthodes de préparation du sérum n'ont pas fait beaucoup de progrès et sont restées ce qu'elles étaient à l'époque de la découverte de Behring.

La préparation d'une toxine active semble toujours être le facteur principal dans la préparation du sérum antidiphtérique : les conditions à remplir pour obtenir des bouillons bien toxiques ont été examinées antérieurement au chapitre de la diphtérie.

L'immunisation des chevaux se pratique en inoculant des doses croissantes de ces bouillons toxiques. Les inoculations doivent être continuées pendant toute la durée de l'immunisation, à intervalles réguliers. Ces injections se font

Inoculation des chevaux.

aseptiquement. Les seringues doivent être bien stérilisées dans l'eau bouillante avant l'opération. Les pistons d'asbeste sont très recommandables. Pour les injections volumineuses, de plus de 100 gr., nous recommandons l'emploi d'une seringue armée d'un tube en caoutchouc épais : l'aiguille, de 10-12 centimètres de longueur, est réunie à ce caoutchouc par un pas de vis, qui permet d'éviter les fuites de liquide pendant l'injection.

Après un certain temps, des adhérences assez fortes se produisent dans le tissu cellulaire sous-cutané de l'encolure et obligent l'opérateur à faire pénétrer le liquide sous la peau avec une certaine pression.

Les meilleurs chevaux pour l'immunisation sont : le cob demi-sang et le pur-sang. On débute généralement par 1/2 ou 1 gr. de toxine : nous n'avons jamais constaté d'accident à cette dose. Si l'injection est bien supportée, on peut monter rapidement à 5 et 10 gr. en pratiquant les injections tous les quatre ou cinq jours, lorsque les symptômes locaux et généraux de l'inoculation précédente ont disparu.

Il est nécessaire de prendre soigneusement la température rectale une ou deux fois par jour. En se guidant sur ces indications, on arrive petit à petit aux fortes doses de 50, 100, 200 gr.

Nous ne dépassons pas 300 gr. par injection et il est même préférable dans ce cas de pratiquer trois injections de 100 gr. à trois endroits différents : on évite de cette façon les abcès qui retardent l'immunisation.

On peut encore immuniser les chevaux avec un mélange de toxine et d'antitoxine (procédé des toxones).

Nous avons pu également obtenir une bonne immunité au moyen des injections intraveineuses de toxine : l'inoculation est suivie d'une sudation très abondante et parfois de syncope, quand la dose dépasse 200 gr.

Les essais provisoires de la valeur antitoxique du sérum sont pratiqués en introduisant une aiguille à injection dans le veine jugulaire : le sang s'écoule goutte à goutte et en le récoltant dans une éprouvette de 10 c. c. on obtient suffisamment de sérum pour un essai.

Les saignées.

Les grandes saignées sont pratiquées en introduisant dans la veine un trocart taillé en forme de plume à écrire. Un tube de caoutchouc relie ce trocart à des éprouvettes d'un litre, dans lesquelles se récolte le sang. On doit avoir soin de stériliser ces éprouvettes à l'autoclave et non pas à l'étuve sèche, car sinon le caillot adhère aux parois et la coagulation se fait très mal.

On laisse déposer pendant vingt-quatre heures;

avec des flacons cylindriques, on peut recueillir 600 grammes de sérum par litre de sang. La saignée doit se faire de préférence huit jours après la dernière injection. Un appareil spécial, construit par Cogit à Paris, permet de recueillir le sang dans une bouteille de cinq litres et d'obtenir plus de trois litres de serum (appareil Latapie).

Essai du sérum :

1° *Méthode de Roux*.

Évaluation du sérum.

On évaluait primitivement le pouvoir préventif du sérum antidiphtérique : un sérum était à 50,000 lorsqu'un centigramme préservait un cobaye de 500 gr. contre une dose mortelle de toxine tuant en 40 heures un cobaye témoin. Le rapport entre le poids de l'animal et la quantité de sérum employée mesurait le pouvoir préventif. Le sérum était inoculé 12 heures avant la toxine.

Cette méthode ne donnant pas de résultats exacts a été complètement abandonnée.

2° *Méthode de Behring-Ehrlich* :

On inocule à une série de cobayes un mélange de sérum et de toxine. On prend des doses graduellement croissantes de sérum, en partant du principe suivant : le sérum normal, c'est-à-dire renfermant une unité antitoxique par c. c., est un sérum qui à la dose de 0.10 neutralise dix doses

mortelles de toxine. La dose de toxine se calcule en prenant exactement la dose mortelle *minima* pour un cobaye de 250 grammes et en multipliant cette dose par 10.

On injecte le mélange de toxine et de sérum sous la peau du dos à une série de cobayes. On pratique les dilutions nécessaires afin d'obtenir environ 4 ou 5 c.c. de liquide.

Le sérum est généralement dilué au millième dans la solution physiologique; un gramme représente donc un milligramme de sérum. Le poison est dilué au dixième; 1 c.c. représente donc 10 centigrammes de poison.

Inoculations aux cobayes :

Un cobaye reçoit 0.001 de sérum et 0.2 de poison (10 doses mortelles).

Soit 1 gr. de la dilution de sérum (1 °/₀₀).
2 gr. » » de poison (10 °/₀).
2 gr. de solution physiologique.

Après quarante-huit heures, on n'observe pas de symptômes locaux. Ce sérum est considéré comme du sérum à 100, c'est-à-dire contenant 100 unités antitoxiques par centimètre cube.

Un autre cobaye ayant reçu 0.00085 de sérum est mort après huit jours, ayant présenté un fort œdème local.

Si les dosages sont très rigoureusement faits, cette méthode peut rendre de grands services.

On lui préfère généralement une nouvelle méthode plus perfectionnée que nous allons résumer brièvement.

3° *Méthode d'Ehrlich* :

Ce procédé, adopté dans la plupart des laboratoires de sérothérapie, tient compte des difficultés que présente un dosage exact du sérum à cause des variations de la toxine étalon : celle-ci perd facilement son groupement toxophore et conserve son groupement haptophore, c'est-à-dire sa propriété de fixer l'antitoxine.

L'unité de toxine, est la plus petite dose sûrement mortelle pour un cobaye de 250 gr., en quatre, cinq ou au maximum six jours.

L'unité antitoxique est la quantité minima de sérum qui, par mélange *in vitro*, parvient à neutraliser 100 unités de toxine.

Pour plus d'exactitude, ces deux valeurs, unité de toxine et unité antitoxique, sont estimées par *voie indirecte*. Pour déterminer l'unité de toxine on prend un sérum étalon et on commence par ajouter à l'unité de ce sérum une dose de toxine suffisante pour neutraliser cette unité et de plus tuer l'animal (toxine en excès).

Cette dose toxique servira pour l'évaluation du sérum qu'on désire éprouver. Pour constater la valeur antitoxique du sérum, il suffira d'ajouter à cette dose d'essai de la toxine, fixée une

fois pour toutes, des doses croissantes de sérum jusqu'à neutralisation complète.

Admettons que cent unités de toxine soient neutralisées par 0.01 de sérum; comme 100 unités de toxine sont neutralisées par 1 gr. de sérum normal, le sérum à éprouver est cent fois plus actif que le sérum normal choisi comme étalon et renferme donc 100 unités par c. c.

La dose d'essai de la toxine est évaluée au moyen d'un « test-sérum » délivré par l'Institut officiel du gouvernement allemand. Ce test-sérum est conservé desséché dans le vide et garde longtemps sa valeur. Dans un volume de poison renfermant 100 doses mortelles, on ajoute du sérum étalon jusqu'à ce que le mélange soit neutre pour le cobaye (Lo). Si à ce mélange on ajoutait une dose de toxine, on devrait tuer les cobayes (L+), mais en pratique on doit toujours ajouter plusieurs doses mortelles, car la toxine qu'on ajoute déplace les toxones : elle ne produit son effet que lorsqu'elle a remplacé tous les équivalents de toxone combinés à l'antitoxine. Donc (L + — Lo) = D. D. équivaut généralement à plusieurs doses mortelles de toxine.

On mélange la dose d'essai du poison à 4 gr. de la solution du sérum à essayer. On inocule le mélange sous la peau d'un cobaye

de 250-280 gr. Si l'animal succombe dans les quatre premiers jours, le sérum n'a pas la valeur qu'on lui attribuait.

On se sert de préférence de poisons conservés depuis longtemps sous le toluol; il faut noter que la dose d'essai de la toxine ne peut pas dépasser 1 c. c.

Détermination de la valeur d'un sérum :

1° *Dilution du sérum étalon.*

Chaque flacon fourni par l'Institut allemand contient du sérum glycériné à 17 unités par c.c.

Il faut donc prendre 1 gr. de ce sérum et le mélanger à 16 gr. d'eau pour obtenir un sérum contenant 1 unité par centimètre cube (solution type).

2° *Détermination de la dose d'essai de la toxine (Schéma)* :

Expér.	Serum.	Poison.	Résultat.
Cob. 1.	1 c. c (1 unité).	0.70	✠ en 3 jours.
Cob. 2.	»	0.65	✠ en 3 jours.
Cob. 3.	»	0 60	✠ en 10 jours.
Cob. 4.	»	0.55	Nihil.
Cob. 5.	»	0.50	Nihil.

(Lo = 55 centig. et L+ = 65 centig.) D = 10 centig. ou 5 doses mortelles.

La dose d'essai de la toxine est donc 65 centigrammes.

3° *Essai du sérum* :

On fait une solution au centième du sérum à essayer :

Le cobaye n° 6, 250 gr., reçoit 0,65 toxine + 1 gr. sérum 1 p. c. (sérum à 100).

Le cobaye n° 7, 280 gr., reçoit 0,65 toxine + 0,66 gr. sérum 1 p. c. (sérum à 150).

Le cobaye n° 8, 270 gr., reçoit 0,65 toxine + 0,50 gr. sérum 1 p. c. (sérum à 200).

Le cobaye 8 meurt le quatrième jour.

Les cobayes 6 et 7 n'ont rien.

Résultat de l'analyse : Le sérum contient *150 unités* par c. c.; en effet, il est cent cinquante fois plus antitoxique que le sérum normal (solution type).

Ces chiffres sont absolument schématiques; dans la pratique, on doit fréquemment employer des séries de dix à douze cobayes pour obtenir une analyse bien nette.

Résultats de la sérothérapie antidiphtérique :

Dans tous les pays, la mortalité par diphtérie a diminué dans d'énormes proportions depuis l'introduction du sérum.

Prenons quelques chiffres dans les statistiques les plus récentes.

A Paris, on a constaté en 1892, 1,398 décès par croup et diphtérie; après l'application du sérum, en 1897, on ne compte plus que 274 décès.

A Berlin, en 1893, il y avait 1,637 décès par diphtérie. En 1897, ce chiffre descend à 546.

Enfin, à Bruxelles, on constatait, avant la période sérothérapique, une moyenne de 84 décès par an (sans les faubourgs). En 1897, on n'enregistre plus que 16 décès.

2° *Sérothérapie antitétanique.*

Tétanos. La sérothérapie du tétanos n'a pas donné jusqu'ici les résultats qu'on en attendait. Cet insuccès dépend de la rapidité avec laquelle évoluent les symptômes de cette affection meurtrière. Lorsque les manifestations tétaniques apparaissent, le poison spécifique s'est déjà combiné aux cellules nerveuses de la moelle. Le sérum injecté alors, a encore le pouvoir de neutraliser les effets du poison circulant dans l'économie; la toxine, qui est déjà combinée aux cellules nerveuses, ne peut plus en être séparée que difficilement, ainsi qu'on a pu le démontrer dans les expériences de laboratoire. Ces considérations nous indiquent pourquoi un sérum, même très antitoxique, peut n'avoir qu'une

influence médiocre sur les progrès de la maladie.

La préparation du sérum antitétanique est assez difficile : on doit inoculer très prudemment les chevaux et débuter par des doses faibles de toxines filtrées et traitées par le trichlorure d'iode. Immunisation des chevaux.

Si on dispose d'une toxine qui tue le lapin à la dose de 75 centigrammes, on fait les mélanges suivants :

A 80 gr. de cette toxine on ajoute 0.25 p. c. de trichlorure d'iode; ensuite à 60 gr. de toxine on ajoute 0.175 p. c. de cette substance; enfin, à 40 gr. de toxine on ajoute 0.125 p. c. d'iode.

On inocule aux chevaux d'abord 10 gr. de la première solution; après huit jours, 20 gr. de cette même solution; huit jours après, encore 20 gr. et trois jours après, le reste. On passe alors à la solution n° 2, puis au n° 3, pour arriver lentement aux doses progressivement croissantes de toxine pure.

Méthode d'essai. Le sérum obtenu doit être éprouvé comme le sérum antidiphtérique au moyen de la méthode des mélanges. Par conséquent, à une quantité connue de toxine on ajoute des doses variables d'antitoxine. Le mélange est inoculé à des souris et on calcule la dose de sérum nécessaire pour empêcher toute action toxique. Essai.

Behring et Knorr ont établi comme unité normale une dose de sérum étalon qui est délivrée par l'Institut de médecine expérimentale de Francfort.

Pour être thérapeutique, le sérum antitétanique doit renfermer au moins 10 unités normales par c. c. On le trouve dans le commerce en flacons de 25 grammes renfermant donc 250 unités.

Pour l'injection préventive, on se sert généralement de 20 unités antitoxiques, soit 2 grammes de sérum.

Le sérum est conservé par l'addition de 0.25 p.c. de métakrésol. Plusieurs laboratoires préparent également le sérum desséché.

Le sérum antitétanique est beaucoup employé en médécine vétérinaire, où les opérations sont fréquemment suivies de tétanos : sur 3,088 animaux exposés à l'infection et traités par l'injection préventive, Nocard n'a pas observé un seul cas de tétanos, alors que 1,314 animaux non immunisés et mis dans les mêmes conditions de contagion ont tous succombé au tétanos.

Chez l'homme, le tétanos est heureusement très rare; les résultats de la sérothérapie semblent être moins favorables qu'en medecine vétérinaire, parce que la maladie évolue le plus

souvent avec une trop grande rapidité pour permettre une intervention efficace.

3° *Sérothérapie antivenimeuse :*

Les venins.

La découverte du principe antitoxique des sérums a été appliquée par Calmette à l'étude du venin des serpents. Il a trouvé que la toxicité des venins varie beaucoup d'après les espèces de serpents et que pour un même serpent le danger des morsures augmente beaucoup, si le serpent n'a plus mordu depuis longtemps.

Calmette a établi que la dose toxique pour les cobayes varie entre 0,05 et 0,3 milligr. Ayant constaté qu'il est possible d'immuniser les cobayes et les lapins et de produire des sérums fortement antitoxiques, l'auteur transporta ces essais sur des chevaux, afin d'obtenir un sérum thérapeutique pour l'homme.

On constate chaque année plus de vingt mille décès par morsures venimeuses aux Indes seulement; il était donc intéressant d'obtenir un sérum actif pour traiter les malades. En se servant d'un mélange de venins d'origines différentes, on a pu augmenter notablement le pouvoir antitoxique du sérum.

Pour être employé avec chances de succès, le sérum antivenimeux doit avoir un titre préventif d'au moins 10,000, c'est-à-dire qu'injecté au

lapin à un dix-millième de son poids, il doit permettre l'inoculation, deux heures après, de 1 milligramme de venin de cobra capello.

Une dose thérapeutique moyenne de 10 c. c. renferme au moins vingt mille unités antivenimeuses.

Peste. 4° *Sérothérapie de la peste bubonique.* Les essais de sérothérapie tentés avec le sérum antipesteux offrent un grand intérêt scientifique et constituent le premier essai de traitement d'une maladie infectieuse par un sérum bactéricide, non antitoxique. On sait que ce sérum est obtenu par l'inoculation de cultures vivantes de peste à des chevaux.

Les inoculations pratiquées à doses massives lors de l'épidémie de Porto ont donné des résultats plutôt encourageants : la mortalité qui est souvent élevée, est tombée, grâce à l'emploi du sérum, à 10 p. c.

Dysenterie. 5° *Sérothérapie de la dysenterie.* Le sérum spécifique de la dysenterie est obtenu par inoculation du bacille de Shiga à des chevaux.

L'essai du sérum démontre qu'il est nettement bactéricide et qu'il agglutine fortement le bacille spécifique.

Comme nous l'avons vu antérieurement, ce sérum présente un grand intérêt au point de vue de la théorie de l'immunité : c'est en effet

le premier sérum que nous connaissions qui soit réactivé par le sérum humain, c'est-à-dire dont l'ambocepteur spécifique se combine facilement au complément de notre organisme et permette à l'alexine de Buchner d'agir sur le microbe pour le dissoudre.

Ce sérum a été employé au Japon, où, injecté à trois cents malades, il a réduit la mortalité de 50 p. c. environ.

6° *Sérothérapie du streptocoque :* Strepto-coque.

Les résultats cliniques de la sérothérapie antistreptococcique sont encore fort discutés :

Voilà sept années que ce sérum a été prôné à outrance par les uns, déclaré inefficace par les autres.

Nous pensons que ces différences d'appréciation tiennent en grande partie aux qualités très différentes des sérums mis en circulation depuis cette époque. — Pour notre part, nous avons contrôlé très souvent les différents sérums antistreptococciques qui se trouvent dans le commerce : très rarement nous avons pu leur reconnaître une qualité spécifique quelconque, soit agglutinante vis-à-vis de différents échantillons de streptocoques humains, soit préventive contre l'inoculation mortelle chez le lapin.

Au cours de nos analyses, nous avons

rencontré souvent des échantillons de sérums antistreptococciques renfermant des cultures pures de streptocoques virulents. Il pouvait donc y avoir un réel danger à injecter ce sérum à l'homme; cette erreur regrettable provenait probablement de ce que les sérums ont été préparés à une certaine époque avec des cultures vivantes de streptocoques.

Les premiers résultats vraiment favorables dans la préparation et dans l'emploi du sérum antistreptococcique ont été publiés par Tavel en 1901. Ayant rappelé le peu d'activité du sérum de Marmorek et le manque d'effet du sérum polyvalent de Denys, Tavel a proposé d'inoculer au cheval des streptocoques provenant directement d'affections humaines, sans passage par les animaux. — Récemment, Marmorek a déclaré avoir amélioré les milieux de culture du streptocoque, en préparant des bouillons contenant de la leucine et du glycocolle : les streptocoques se développeraient bien dans ces milieux et y produiraient même une toxine tuant le lapin à la dose de 1/4 de c. c.

Les chevaux destinés à la production du sérum antistreptococcique sont inoculés, les uns avec des corps microbiens, les autres avec de la toxine : le sérum antistreptococcique livré aux pharmaciens est un mélange du sérum des

deux groupes de chevaux inoculés par ces méthodes différentes.

Actuellement, le sérum antistreptococcique qui semble donner les meilleurs résultats, au moins dans les expériences de laboratoire, et dont le titre préventif semble consciencieusement établi par des essais exacts, est le sérum d'Aronson, préparé chez Shering, à Berlin. La valeur préventive de ce sérum a été essayée dans plusieurs laboratoires et on lui a reconnu des qualités vraiment spécifiques vis-à-vis de l'infection streptococcique expérimentale. Nous attendons avec intérêt les résultats cliniques des premières applications de ce sérum.

Aronson a publié les résultats d'une nouvelle méthode d'essai du sérum antistreptococcique qui rend des services pour contrôler la valeur spécifique d'un sérum avant son emploi thérapeutique.

Le principe de cette méthode est le suivant : On inocule à des souris des doses progressivement décroissantes du sérum à essayer. Le lendemain, on pratique à chacune de ces souris une injection intrapéritonéale de dix doses mortelles de culture virulente. Les témoins, qui ont reçu des doses simples, doivent succomber en vingt-quatre à quarante-huit heures.

Par analogie avec le sérum contre le rouget, on propose de considérer comme sérum normal

un sérum qui préserve à la dose de 1 centigr.

Ce sérum normal renferme une unité par c. c. Aronson a obtenu un sérum vingt-cinq fois plus énergique, actif à la dose de 0,0005 Ce sérum avait la propriété, non seulement de préserver contre l'infection, mais de guérir rapidement les animaux qui possédaient déjà une quantité de streptocoques dans leur sang. Le sérum antistreptococcique ne renferme que des ambocepteurs : on peut le chauffer impunément à 62° pendant une heure.

Il existe une différence notable entre le sérum antistreptococcique et les sérums bactéricides obtenus dans le choléra, la fièvre typhoïde, etc. On a pu constater en effet que ce sérum antistreptococcique a la propriété d'immuniser les animaux de laboratoire contre des multiples élevés de la dose mortelle pour les témoins et, de plus, que son action curative s'exerce encore assez longtemps après l'infection, ce que nous n'avons jamais pu constater dans l'immunité antityphique expérimentale.

Le sérum préparé au moyen d'un streptocoque isolé dans la scarlatine est actif contre tous les streptocoques indistinctement : on peut en conclure que, s'il n'y a pas identité complète entre les streptocoques humains, il y a au moins une parenté très étroite entre les différentes variétés isolées jusqu'ici.

CHAPITRE XII

La Bactériologie des appareils.

Résumé.

Nous croyons utile de résumer ici sous forme de tableaux les affections microbiennes qui se rencontrent le plus souvent et la liste des produits morbides dont on aura le plus fréquemment l'occasion de faire l'examen bactériologique :

I. Appareil respiratoire :

A. *Affections croupales :* 1. Bacille de Löffler; 2. Streptocoque.

B. *Bronchites :* 1. Streptocoque; 2. Influenza.

C. *Broncho-pneumonies :* 1. Streptocoque; 2. Pneumocoque; 3 Pneumobacille. Comme infection secondaire : 4. Bacille d'Eberth; 5. Bacille de l'influenza; 6. Colibacille.

D. *Pneumonies :* 1. Pneumocoque de Fränkel; 2. Pneumobacille de Friedlander; 3. Streptocoque; Staphylocoque.

E. *Pleurésies :* 1. Bacille de Koch; 2. Streptocoque; 3. Pneumocoque; 4. Influenza; 5. Bacille typhique; 6. Colibacille.

II. Appareil digestif :

A. *Affections du pharynx :* Bacille de Löffler; 2. Staphylocoques; 3. Streptocoques; 4. Pseudo-diphtérie;

B. *Parotidites :* 1. Staphylocoques; 2. Streptocoque.

C. *Affections intestinales :* 1. Colibacille; 2. Streptocoque; 3. Bacille typhique; 4. Bacille du choléra; 5. Bacille de la diarrhée verte; 6. Bacille de la dysenterie.

D. *Péritonites :* 1. Streptocoque; 2. Tuberculose; 3. Colibacille.

III. Appareil genito-urinaire :

A. *Urétrites :* 1. Gonocoque; 2. Diplocoques voisins (non spécifiques).

B. *Cystites :* 1. Colibacille; 2 Streptocoque; 3. Gonocoque; 4. Bacille de Koch.

C. *Vaginites :* 1. Gonocoque; 2. Streptocoque.

D. *Endométrites :* 1. Staphylocoque; 2. Streptocoque; 3 Gonocoque.

IV. Système nerveux : *Méningites :* 1. Staphylocoque; 2. Meningocoque; 3. Tuberculose; 4. Pneumocoque.

V. Organes des sens :

A. *Conjonctivites :* 1. Bacille de Löffler; 2. Pseudo-diphtérie (b. de la xerose); 3. Streptocoques; 4. B. de Weeks (c. aiguë); 5. Diplobacille de Morax (c. chronique); 6. Gonocoque; 7. Pneumocoque.

B. *Otites :* 1. Staphylocoque; 2. Streptocoque; 3. B. de l'influenza; 4. B. de la tuberculose.

Produits morbides le plus fréquemment soumis à l'analyse :

1. Pus : Pouvant présenter les bactéries suivantes : *a.* Staphylocoques; *b.* Streptocoques; *c.* Gonocoque; *d.* B. du chancre mou; *e.* Meningocoque; *f.* Tétanos; *g.* Tuberculose; *h.* Actinomycose.
2. Crachats : *a.* Tuberculose; *b.* Streptocoque; *c.* Pneumocoque; *d.* Influenza; *e.* B. Friedlander.
3. Fausses membranes : Diphtérie, pseudo-diphtérie, staphylocoque, streptocoque.
4. Eaux : Typhus, b. coli, b. choléra.
5. Selles : B. typhique, coli, choléra, streptocoque, b. de la diarrhée verte.
6. Sang : Sérodiagnostic, fièvre intermittente.
7. Urines : Colibacille, tuberculose, gonocoque, streptocoque et staphylocoque.

TABLE DES MATIÈRES

Préfaces . . . . . I à VII

CHAPITRE I

La technique microscopique en bactériologie.

1. Le microscope 1
2. La préparation 4
3. L'examen de la préparation 7

CHAPITRE II

La technique bactériologique.

1. Instruments de stérilisation 9
2. Les milieux de culture 13
3. Les méthodes de culture 15
4. L'expérimentation sur les animaux 22

CHAPITRE III

L'examen bactériologique du pus.

1. Les suppurations en général. Isolement des microbes du pus 25
2. Les staphylocoques 28
3. Les streptocoques 30
4. Le gonocoque 32

5. Le bacille du chancre mou. 36
6. L'actinomycose 37
7. Le tétanos 39
8. Suppuration du bacille tuberculeux, du pneumocoque et du bacille typhique . . 41
9. La peste bubonique. 42
10. La morve 44

CHAPITRE IV

L'examen bactériologique des fausses membranes.

1. Les fausses membranes en général 45
2. Le bacille de la diphtérie 47

CHAPITRE V

L'examen bactériologique des crachats.

1. Les microbes des crachats en général . . . 55
2. Le bacille de la tuberculose 57
3. Le diplocoque de la pneumonie. 69
4. Le bacille de Friedlander. 73
5. Le bacille de l'influenza 74

CHAPITRE VI

L'examen bactériologique des déjections.

1. L'analyse des selles en général 77
2. Le vibrion du choléra 78
3. Le bacille de la diarrhée verte 84
4. Le bacille de la dysenterie 85

CHAPITRE VII

L'examen bactériologique des eaux.

1. L'analyse des eaux en général 87
2. Recherche spéciale des bactéries pathogènes. 92

3. Le bacille typhique 96
4. Le bacterium coli. 106

CHAPITRE VIII

L'examen bactériologique de l'air.

1. Les méthodes d'analyse 110
2. La destruction des microbes de l'air. Désinfection 113
3. Les microbes du sol. 119

CHAPITRE IX

L'examen bactériologique du sang.

1. Les microbes du sang 122
2. L'hématozoaire du paludisme 124

CHAPITRE X

L'immunité.

§ 1. Action des bactéries sur l'organisme :
a) Leur croissance 135
b) Leur virulence 139
c) Leurs toxines 141
d) Les infections mixtes 148
§ 2. Action de l'organisme sur les bactéries ;
1° La résistance naturelle : contre les microbes 151
2° L'immunité naturelle contre les toxines . 162
3° » acquise contre les microbes . 163
A. La théorie cellulaire 170
B. La théorie des récepteurs 171
C. Applications pratiques 178
D. Agglutination 182
E. Précipitines. 186
4° L'immunité acquise contre les toxines . . 189

Chapitre XI

Les résultats pratiques de l'immunité.

1. L'immunisation active :
1° Vaccination jennérienne 199
2° » anticholérique 202
3° » antipesteuse 203
4° » antityphique 204
3° » antirabiqne 205
6° » antidiphtérique 207
7° » contre les épizooties. . . . 209
2. L'immunisation passive (sérothérapie).
1° Sérothérapie antidiphtérique 211
2° » antitétanique. 220
3° » antivenimeuse 223
4° » de la peste. 224
5° » de la dysenterie. 224
6° » du streptocoque. 225

Chapitre XII

Résumé de la bactériologie des appareils 229

TABLE ALPHABÉTIQUE

DES MATIÈRES

Abbe 2
Actinomycose 37
Agar-agar 14
Agar sérum de Joos 49
Agglutination 182
Air (microbes de l') 110
Anaérobies 19
Associations microbiennes 148
Autoclave 11
Bleu de Löffler 5
Bouillon 13
Chancre mou 36
Charbon 123
Choléra, diagnostic 78
Id. isolement des eaux 92
Colibacille 106
Colorations (méthodes) 4
Crachats (examen des) 55
Cultures (méthodes) 13
Id. (milieux) 14

Deckglass (nettoyage) 97
Dessiccation des bactéries 4
Diarrhée verte 84
Diphtérie (bacille de la) 47
Dysenterie 85
Eaux 87
Étuve de Roux 17
Expérimentation 22
Fausses membranes 45
Gélatine 14
Gonocoque 32
Gram (coloration de) 5
Hématozoaire 124
Immersion 2
Immunité naturelle 151
Id. acquise 163
Indol (coli) 107
Id. (choléra) 80
Influenza 74
Inoculations aux animaux 22
Lumière (travail à la) 3
Malaria. 124
Meningocoque 36
Microscope 2
Neutralisation des bouillons 13
Numération des colonies 90
Peste bubonique 42
Phagocytose 151
Plaques 15
Pneumobacille 73
Pneumocoques 69
Précipitines 186
Pomme de terre. 14
Préparation microscopique 7

Pseudo-diphtérie 50
Rage (traitement de la). 205
Résistance des bactéries 117
Sang (microbes dans le) 124
Selles (analyses des) 77
Sérodiagnostic 104
Sérothérapie antidiphtérique 211
Id. antitétanique 220
Id. antivenimeuse. 223
Id. antipesteuse 224
Id. antidysentérique 224
Id. antistreptococcique 225
Sol (analyses du) 119
Staphylocoques 28
Stérilisation 10
Streptocoques 30
Suppurations 25
Tétanos 39
Théorie des récepteurs. 171
Toxines 141
Tuberculose 57
Typhus 96
Vaccination 199
Virulence des bactéries 139

COUNTWAY LIBRARY
HC 2PZ7 C

9.A.169.
Manuel de bacteriologie cliniqu1903
Countway Library BEB7338
3 2044 045 640 422

9.A.169.
Manuel de bacteriologie cliniqu1903
Countway Library BEB7338
3 2044 045 640 422